

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR LES PROPRIÉTÉS PATHOGÈNES DU BCG

(A PROPOS DES EXPÉRIENCES DE K. T. SASANO ET E. M. MEDLAR)

par A. BOQUET

(*Institut Pasteur, Laboratoire de la tuberculose*).

Plus encore que les virus atténués du charbon, du rouget, du choléra des poules, de la péripneumonie, de la vaccine et de la rage, le BCG a été l'objet de recherches systématiques en vue d'établir si la dégradation de ses propriétés pathogènes offre un caractère contingent et provisoire, si elle dépend des circonstances particulières de sa culture *in vitro* ou *in vivo*, ou si elle est fixe, irréversible, définitive.

En ce qui concerne la bactériodie charbonneuse, par exemple, on admettait, depuis les expériences de Pasteur et de Tsiklinsky, qu'en inoculant en série, à des animaux de moins en moins sensibles — souris, cobayes et lapins (jeunes et adultes), moutons et enfin bovidés —, des souches totalement atténuées, on pouvait parvenir à leur restituer progressivement la virulence du *B. anthracis* normal. On n'ignorait pas, non plus, que, lorsqu'on se borne à les transplanter de tube en tube ou qu'on les abandonne à l'air libre, les vaccins charbonneux s'affaiblissent et perdent peu à peu leurs propriétés immuni-

santes. Mais la méthode de Pasteur, Chamberland et Roux est d'une précision telle, et les résultats qu'on en obtint furent si probants, que la crainte d'un retour à la virulence ou d'une atténuation excessive de leurs vaccins n'a point fait obstacle à sa généralisation. Si la maladie charbonneuse avait sévi sous une forme épidémique, comme la peste, Pasteur et ses collaborateurs n'eussent pas hésité, sans doute, à appliquer à l'homme le procédé de vaccination qu'ils appliquaient aux animaux, en mesurant l'activité de leurs virus à la réceptivité particulière de l'organisme humain.

Jusqu'à ces dernières années, les bactériologistes étaient unanimes pour affirmer que les espèces microbiennes, bien qu'elles fussent sujettes à des variations souvent étendues, constituent des groupes homogènes, dont certains caractères, comme la virulence et l'aptitude au parasitisme, dépendent plus étroitement du milieu et sont susceptibles de disparaître graduellement. Pour les leur restituer, on considérait comme nécessaire de faire subir aux bactéries une adaptation inverse, que pouvait réaliser la méthode des passages *in vivo* dans l'organisme des animaux réceptifs (Pasteur pour la bactérie charbonneuse, Marmorek pour le streptocoque) ou *in vitro* dans des milieux appropriés (Bordet et Sleeswijk pour le microbe de la coqueluche). Les uns attribuaient les résultats ainsi obtenus à la sélection de germes dont la dégradation aurait subi une marche moins rapide; pour les autres, il s'agissait d'une véritable réadaptation, c'est-à-dire de la restitution globale et progressive de propriétés perdues ou, tout au plus, restées latentes.

Or, des recherches récentes d'Arktwright (1921), de de Kruif (1921), de A. S. Griffith (1923), de Reimann (1925), de Soule (1928) et d'un grand nombre d'autres auteurs, ont démontré que les espèces et les variétés bactériennes, pathogènes et saprophytes, n'ont pas l'homogénéité morphologique et physiologique qu'on leur attribuait, et que l'on peut isoler d'emblée, de chacune d'elles, deux types qui diffèrent totalement par l'aspect de leurs colonies, leurs caractères bio-chimiques, leurs propriétés immunologiques et leur virulence. C'est ainsi que les bacilles du groupe coli-typhique-dysentérique donnent, sur la gélose, d'après Arktwright, d'une part des colonies lisses,

régulières, d'autre part des colonies d'aspect rugueux, à bords irréguliers. Les premières, désignées sous le nom de colonies S (*smooth*) contiennent des germes virulents, les secondes ou colonies R (*rough*) ne renferment que des germes peu pathogènes ou avirulents. Il existe également des types intermédiaires dont les caractères participent à la fois de ceux des colonies R et S.

Le type S offre cette particularité d'être instable et de se transformer en type R sous l'influence de facteurs divers (température, état physique et réaction du milieu, antiseptiques, bactériophage) ou quand on le cultive dans un milieu additionné de sérum normal de lapin ou de sérum anti correspondant.

Cette transformation, convenablement ménagée, permet d'obtenir des virus plus ou moins actifs, dont certains, lorsque leur dégradation atteint une valeur définie et relativement fixe, peuvent être utilisés comme vaccins contre les bactéries du type S de la même espèce. Les vaccins du charbon et du choléra des poules en seraient les exemples les plus démonstratifs.

Ces faits s'accordaient parfaitement avec les notions les plus générales de la bactériologie classique. Néanmoins, le problème de la dissociation microbienne ne pouvait être entièrement résolu que si l'expérience établissait que les germes en apparence stables et avirulents du type R sont capables de faire retour au type S virulent, soit par l'effet d'une sélection inverse, soit en acquérant des caractères nouveaux sous l'influence des facteurs auxquels ils ont été soumis. La possibilité d'obtenir une telle réversion apparaissait d'autant plus importante qu'elle devait fournir une explication vraisemblable du cycle épidémiologique de certaines infections et de l'activité pathogène de bactéries, telles que le pneumocoque et le *B. coli*, dont la virulence expérimentale de l'espèce ou du type ne correspond pas à la gravité des troubles que ces germes déterminent spontanément chez l'homme et chez les animaux. Strycker, par la méthode des passages chez la souris, Dawson et Avery, par la culture en série du type R dans du bouillon additionné de sérum anti R, ont donné la preuve de cette réversion pour le pneumocoque.

Toutes ces considérations peuvent paraître superflues à propos du BCG ; elles nous conduisent cependant au cœur même de notre sujet.

Les adversaires de la méthode de Calmette et Guérin se rangent, en effet, en trois groupes, d'après la nature des arguments qu'ils opposent à son application. Les uns contestent que le BCG, tel quel, soit entièrement privé de virulence et qu'on puisse le considérer comme devenu inapte à produire, chez les animaux sensibles et chez l'enfant, des lésions tuberculeuses actives. Pirquet, avec une violence mystique qui l'amena à rejeter toute méthode de vaccination, Watson avec une obstination irréductible, Nobel, Hutyra ont ainsi soutenu que le BCG est susceptible de provoquer chez le cobaye, dans des circonstances qu'ils n'ont pu définir, des altérations tuberculeuses typiques, lentement évolutives, il est vrai, mais parfois mortelles. Leurs objections ont été maintes fois réfutées, nous n'y reviendrons pas.

Pour d'autres, le BCG acquerrait une virulence croissante et ferait retour au type originel quand on l'inocule en série de cobaye à cobaye ou de lapin à lapin (Korschoun, Kirchner) ou lorsqu'on le cultive *in vitro* sur des milieux spéciaux (Much). On obtiendrait cette réversion plus facilement encore et plus régulièrement *in vivo* en injectant avec le BCG une substance comme l'acide lactique (H. Much) ou en l'inoculant à des cobayes déjà infectés par un streptocoque pathogène (Hormaeche et Makinnon). Mais aucune des nombreuses expériences de contrôle, qui furent effectuées dans tous les laboratoires où l'on prépare le vaccin de Calmette et Guérin, n'a confirmé ces résultats.

Dans le troisième groupe, dont le protagoniste est S. Petroff, nous trouvons quelques expérimentateurs qui, se fondant sur les faits précédemment rapportés à propos de la dissociation microbienne en général, ont tenté de séparer, dans la culture totale du BCG, des colonies S virulentes et des colonies R avirulentes. Or, si la possibilité de dissocier le BCG en ces deux types de colonies a été reconnue exacte pour ce qui concerne leurs aspects morphologiques, Gerlach, Kraus, Neufeld, B. Lange, Piasecka-Zeyland, C. Prausnitz et un grand nombre d'autres auteurs ont démontré que les colonies S de ce

bacille-vaccin ne se montrent pas plus virulentes pour le cobaye et pour le lapin que les colonies R.

Alors que le débat paraissait clos sur cette conclusion, K. T. Sasano et E. M. Medlar l'ont repris sous une forme nouvelle dans un article récemment publié par *Tubercle* (1) en Angleterre et par *The American Review of Tuberculosis* (2) aux Etats-Unis.

Contrairement à Watson et à Nobel, K. T. Sasano et E. M. Medlar ne contestent pas que le BCG, lorsqu'il est cultivé sur la pomme de terre biliée glycinée, dans les conditions indiquées par Calmette et Guérin, soit incapable de provoquer des lésions tuberculeuses évolutives, même quand on l'inocule à la dose de 20 milligrammes au lapin, mais ils prétendent qu'ils ont réussi à augmenter sa virulence et à lui restituer les propriétés pathogènes de la souche dont il dérive, en le cultivant dans un milieu approprié, « en imitant, autant que possible, l'ambiance de l'organisme animal ». Ce milieu particulier n'est autre que le liquide synthétique de Sauton, glyciné à 35 p. 1.000, ajusté à pH 7,2-7,4 avec du carbonate de soude immédiatement avant l'ensemencement, et additionné de 10 p. 100 de sérum frais de lapin.

La première culture sur ce milieu se développe lentement, puis la végétation devient de plus en plus rapide dans les subcultures obtenues par repiquage du voile toutes les deux ou quatre semaines. Au quatrième passage, la membrane microbienne qui recouvre le liquide devient plus mince et plus friable; elle se dissocie avec la plus grande facilité et donne des suspensions très homogènes dans l'eau physiologique. Dès le troisième passage, les propriétés pathogènes du BCG sont modifiées à un tel point qu'une dose de 1 milligramme, injectée par voie veineuse, provoque, chez le lapin, une tuberculose généralisée, mortelle en trente à soixante jours. La virulence augmente encore au cours des passages ultérieurs, comme on peut en juger par le tableau ci-après; finalement la culture du huitième passage tue le cobaye en soixante jours à la dose de 0 milligr. 02 en injection sous-cutanée et le veau en trente-quatre jours, à la dose de 0 milligr. 8 en injection intraveineuse.

(1) *Tubercle*, 12, 1931, p. 214.

(2) *Amer. Rev. of Tuberculosis*, 23, 1931, p. 215.

Deux lapins témoins, auxquels Sasano et Medlar avaient inoculé par voie veineuse 20 milligrammes de BCG cultivé sur pomme de terre biliée, furent sacrifiés un an plus tard. « Ils n'avaient jamais présenté aucun signe de maladie et étaient en bon état au moment où ils furent tués. Aucune lésion macroscopique des tissus ne fut trouvée à leur autopsie. L'examen microscopique des tissus révéla la présence de quelques cellules géantes, de quelques petits tubercules dans les poumons, la rate et le foie et de petites collections de lymphocytes dans les poumons et dans le foie. Aucun bacille ne fut trouvé dans les tissus après une recherche prolongée. »

REPIQUAGE	NOMBRE de lapins inoculés	DOSES intraveineuses en milligrammes	RÉSULTATS	LÉSIONS macroscopiques	LÉSIONS MICROSCOPIQUES
3	2	1	Mort en 50 j. Mort en 30 j.	Tuberculose généralisée. Tuberculose généralisée.	Tuberculose aiguë, nombreux bacilles.
4	2	1	Mort en 30 j. Mort en 40 j.	Tuberculose généralisée. Tuberculose généralisée.	
5	2	1	Mort en 13 j. Mort en 20 j.	Tuberculose généralisée. Tuberculose généralisée.	
6	2	1	Mort en 11 j. Mort en 22 j.	Tuberculose généralisée. Tuberculose généralisée.	Lésions généralisées sous forme d'abcès. Bacilles très nombreux.
7	2	1	Mort en 21 j. Mort en 22 j.	Tuberculose généralisée. Tuberculose généralisée.	
8	1	0,1	Mort en 30 j.	Tuberculose généralisée.	

Ces derniers faits, qui corroborent sans restriction ceux que nous avons publiés en 1921 avec M. Calmette et avec Nègre (1), et les observations anatomo-pathologiques de E. Coulaud (2) établissent, d'après les auteurs mêmes, l'innocuité du BCG.

Étant donné qu'ils se proposaient de restituer au BCG ses propriétés originelles, Sasano et Medlar auraient dû suivre,

(1) A. CALMETTE, A. BOQUET et L. NÈGRE, Contribution à l'étude du bacille tuberculeux bilié. *Ces Annales*, 35, 1921, p. 561.

(2) E. COULAUD, Effets des injections intraveineuses massives de bacilles biliés (BCG). *Ces Annales*, 41, 1927, p. 289.

après chaque passage sur leur milieu spécial, la progression de sa virulence. Or les constatations faites à l'autopsie des lapins inoculés avec les cultures des deux premiers passages sont passées sous silence, et l'on ne peut que regretter une telle lacune dans un travail aussi important.

Grâce à la courtoisie de Medlar, qui nous communiqua les résultats de ses recherches trois mois avant qu'ils fussent publiés, nous avons pu effectuer, à partir de décembre 1930, les expériences de contrôle résumées ci-après.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

((Voir tableaux I, II, III.)

Le 4 décembre 1930, on ensemece deux ballons de 100 cent. cubes contenant 50 cent. cubes de milieu de Sasano-Medlar, pH 7,2, avec un voile de BCG du trois cent quatre-vingt-dix-septième passage sur pomme de terre biliée glycerinée, provenant d'une culture de deuxième passage sur milieu de Sauton.

Cet ensemeccement donne le passage A1.

Le 12 décembre 1930, on repique A1 en A2 sur le milieu de Sasano-Medlar ;
Le 27 décembre 1930, on repique A2 en A3 sur le même milieu ;
Le 2 janvier 1931, on repique A3 en A4 sur le même milieu ;
Le 14 janvier 1931, on repique A4 en A5 sur le même milieu ;
Le 22 janvier 1931, on repique A5 en A6 sur le même milieu ;
Le 2 février 1931, on repique A6 en A7 sur le même milieu ;
Le 14 février 1931, on repique A7 en A8 sur le même milieu ;
Le 28 février 1931, on repique A8 en A9 sur le même milieu ;
Le 16 mars 1931, on repique A9 en A10 sur le même milieu ;
Le 17 avril 1931, on repique A10 sur plusieurs tubes de pomme de terre au bouillon glyceriné.

Tous ces ensemeccements sur Sauton + sérum de lapin ont fourni un voile abondant, épais, qui s'est développé rapidement.

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

(Voir tableaux IV, V, VI, VII.)

Le 6 janvier 1931, on ensemece deux ballons de 100 cent. cubes contenant chacun 50 cent. cubes de milieu de Sasano-Medlar, pH 7,2, avec une culture de BCG du trois cent quatre-

SÉRIE A — BCG 397

TABLEAU I. — Cobayes.

NUMÉRO ET DATE du passage sur Sauton + sérum	N ^{os} des cobayes	DOSE ET VOIE de l'inoculation	DATE de l'inoculation	DATE de la mort	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
A 2 du 12 décembre . . .	1	10 milligr., I. P.	14 janvier 1931.	16 février 1931.	Un nodule (lentille) dans l'épiphloon et un petit nodule (tête d'épingle) sur la rate.
A 2 du 12 décembre . . .	2	10 milligr., I. P.	14 janvier 1931.	16 février 1931.	L'autopsie n'a pu être pratiquée.
A 2 du 12 décembre . . .	3	10 milligr., P. C.	14 janvier 1931.	16 février 1931.	L'autopsie n'a pu être pratiquée.
A 2 du 12 décembre . . .	4	10 milligr., P. C.	14 janvier 1931.	5 février 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
A 3 du 27 décembre . . .	5	10 milligr., P. C.	22 janvier 1931.	11 mars 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
A 3 du 27 décembre . . .	6	10 milligr., P. C.	22 janvier 1931.	12 mars 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
A 3 du 27 décembre . . .	7	10 milligr., I. P.	22 janvier 1931.	23 avril 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
A 3 du 27 décembre . . .	8	10 milligr., I. P.	22 janvier 1931.	27 avril 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
A 4 du 2 janvier	9	10 milligr., P. C.	6 février 1931.	14 mars 1931.	Abcès et légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
A 4 du 2 janvier	10	10 milligr., P. C.	6 février 1931.	24 mars 1931.	Abcès et légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
A 4 du 2 janvier	11	10 milligr., I. P.	6 février 1931.	20 février 1931.	Nodules épiloïques.
A 4 du 2 janvier	12	10 milligr., I. P.	6 février 1931.	7 mars 1931.	Nodules épiloïques et un petit nodule sur la rate.
A 5 du 14 janvier	13	10 milligr., P. C.	16 février 1931.	10 mars 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
A 5 du 14 janvier	14	10 milligr., P. C.	16 février 1931.	28 février 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
A 5 du 14 janvier	15	10 milligr., P. C.	16 février 1931.	9 mars 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.

A6 du 22 janvier	20	10 milligr., P. C.	24 février 1931.	9 mars 1931.	Abès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
A6 du 22 janvier	21	10 milligr., P. C.	24 février 1931.	21 mars 1931.	Abès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux. Pseudo-tuberculose mésentérique et splénique.
A6 du 22 janvier	22	10 milligr., I. P.	24 février 1931.	29 avril 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
A6 du 22 janvier	23	10 milligr., I. P.	24 février 1931.	25 mars 1931.	Épaississement de l'épilon. Pseudo-tuberculose mésentérique et splénique (culture).
A6 du 22 janvier	24	10 milligr., I. P.	24 février 1931.	13 mars 1931.	Épaississement et nodules de l'épilon.
A7 du 2 février	25	10 milligr., P. C.	6 mars 1931.	9 juin 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
A7 du 2 février	26	10 milligr., P. C.	6 mars 1931.	18 mars 1931.	Abès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
A7 du 2 février	27	10 milligr., P. C.	6 mars 1931.	17 avril 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
A7 du 2 février	28	10 milligr., I. P.	6 mars 1931.	14 mars 1931.	Abès épiloïques et périonéaux.
A7 du 2 février	29	10 milligr., I. P.	6 mars 1931.	17 avril 1931.	Un nodule épiloïque (lie d'épingle) purulent.
A7 du 2 février	30	10 milligr., I. P.	6 mars 1931.	17 mars 1931.	Trois nodules épiloïques (grosse lentille) purulents.
A9 du 28 février	31	10 milligr., P. C.	25 mars 1931.	13 avril 1931.	Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
A9 du 28 février	32	10 milligr., P. C.	25 mars 1931.	20 avril 1931.	Légère hypertrophie des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
A9 du 28 février	33	10 milligr., P. C.	25 mars 1931.	28 avril 1931.	Légère hypertrophie des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
A9 du 28 février	34	10 milligr., P. C.	25 mars 1931.	14 avril 1931.	Nodule épiloïque (lentille), purulent.
A9 du 28 février	35	10 milligr., P. C.	25 mars 1931.	20 avril 1931.	Nodule épiloïque (lentille), purulent.
A9 du 28 février	36	10 milligr., P. C.	25 mars 1931.	26 mai 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.

TABLEAU II. — Lapins.

NUMÉRO ET DATE du passage de la culture	NUMÉROS des lapins	DOSE inoculée par voie veineuse en milligr.	DATE de l'inoculation	DATE de la mort	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
A 2 du 12 décembre	1	40	14 janvier 1931.	7 mars 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
A 2 du 12 décembre	2	40	14 janvier 1931.	9 février 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
A 3 du 27 décembre	3	40	22 janvier 1931.	20 février 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
A 4 du 2 janvier	4	40	6 février 1931.	25 mai 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
A 5 du 14 janvier	5	40	16 février 1931.	22 mai 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
A 5 du 14 janvier	6	40	16 février 1931.	25 avril 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
A 6 du 22 janvier	7	40	24 février 1931.	22 mai 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
A 6 du 22 janvier	8	40	24 février 1931.	22 mai 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
A 7 du 2 février	9	40	6 mars 1931.	24 avril 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
A 7 du 2 février	40	40	6 mars 1931.	9 juin 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
A 9 du 28 février	41	40	25 mars 1931.	27 mars 1931.	Pasteurellose (culture). Dans deux petits foyers de broncho-pneumonie on trouve quelques bacilles acido- résistants. On broie ces foyers et on les inocule à quatre cobayes, sous la peau (voir tableau III).
A 9 du 28 février	42	40	25 mars 1931.	48 avril 1931.	

TABLEAU III. — Cobayes inoculés avec le produit de broyage des lésions pulmonaires du lapin n° 12
(Voir tableau II).

NUMÉROS DES COBAYES	DATE DE L'INOCULATION	DATE DE LA MORT	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
37	18 avril 1931.	21 avril 1931.	Vaste abcès au point d'inoculation.
38	18 avril 1931.	22 avril 1931.	Vaste abcès au point d'inoculation.
39	18 avril 1931.	24 avril 1931.	Abcès au point d'inoculation. Ganglions inguinaux hypertrophiés et hémorragiques contenant quelques bacilles acido-résistants.
40	18 avril 1931.	27 avril 1931.	Abcès au point d'inoculation. Pas de bacilles visibles dans les ganglions inguinaux.

vingt-neuvième passage sur pomme de terre biliée glycinée du 4 décembre 1930 en dissociant directement la masse microbienne (environ 5 centigrammes) dans le liquide. Cet ensemencement donne le passage B1.

Le 22 janvier 1931, on repique B1 en B2 sur le même milieu;

Le 31 janvier 1931, on repique B2 en B3 sur le même milieu;

Le 14 février 1931, on repique B3 en B4 sur le même milieu;

Le 28 février 1931, on repique B4 en B5 sur le même milieu;

Le 16 mars 1931, on repique B5 en B6 sur le même milieu.

L'ensemencement du premier passage B1 a fourni un voile très fin, qui s'est lentement étendu sur toute la surface du milieu. Les voiles des cultures B2, B3 et B4 étaient plissés et épais comme ceux des cultures normales de BCG sur le milieu de Sauton. Par contre la culture B5 a donné un voile en partie mince, en partie épais, qui fut repiqué dans quatre ballons de milieu de Sasano-Medlar : deux pour le voile mince et deux pour le voile épais.

Le 27 mars 1931, le voile de la culture totale, le voile mince et le voile épais ont été repiqués séparément sur pomme de terre au bouillon glyciné. La culture du voile mince qui s'est développée sur ce milieu était plus finement plissée, moins sèche et plus facilement dissociable que la culture du voile épais. Mais ces caractères particuliers ont disparu dès le troisième passage sur la pomme de terre glycinée.

TROISIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

(Voir tableaux VIII et IX.)

Le 20 janvier 1931, on ensemence deux ballons de 100 cent. cubes contenant chacun 50 cent. cubes de milieu de Sasano-Medlar, pH 7,2, avec une culture de BCG sur pomme de terre au bouillon glyciné du 8 janvier 1931, provenant du repiquage du quatre cent unième passage sur pomme de terre biliée glycinée. Cet ensemencement donne le passage C1.

Le 30 janvier 1931, on repique C1 en C2 sur le même milieu;

Le 14 février 1931, on repique C2 en C3 sur le même milieu;

Le 24 février 1931, on repique C3 en C4 sur le même milieu;

Le 11 mars 1931, on repique C4 en C5 sur le même milieu;

Le 26 mars 1931, on repique C5 en C6 sur le même milieu;

Le 17 avril 1931, on repique C6 sur pomme de terre au bouillon glyciné.

SÉRIE B — BCG 389

TABLEAU IV. — Cobayes.

NUMÉRO ET DATE du passage sur Sauton + sérum	N ^{os} des cobayes	DOSE ET VOIE de l'inoculation	DATE de l'inoculation	DATE de la mort	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
B5 du 28 février	44	10 milligr., P. C.	25 mars 1931.	27 mars 1931.	Abcès au point d'inoculation. Ganglions inguinaux hypertrophiés. Sous-lombaires normaux. Pseudo-tubercules mésentérique, splénique et hépatique (culture). On inocule à trois cobayes des fragments broyés de rate, poumons et ganglions (voir tableau VI).
B5 du 28 février	42	10 milligr., P. C.	25 mars 1931.	20 avril 1931.	
B5 du 28 février	43	10 milligr., I. P.	25 mars 1931.	11 avril 1931.	Nodules épiloïques purulents.
B5 du 28 février	44	10 milligr., I. P.	25 mars 1931.	8 avril 1931.	Nodules épiloïques purulents.
B5 du 28 février	45	10 milligr., I. P.	25 mars 1931.	31 mars 1931.	Nodules épiloïques purulents.
B6 du 27 mars (pomme de terre) .	49	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	8 juin 1931.	Petit abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
B6 du 27 mars (pomme de terre) .	50	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	12 juin 1931.	Traces d'abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
B6 du 27 mars (pomme de terre) .	51	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	7 juillet 1931.	Sacrifié. Traces d'abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
B6 du 27 mars (pomme de terre) .	52	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	18 mai 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
B6 du 27 mars (pomme de terre) .	53	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	7 juillet 1931.	Sacrifié. Petit abcès au point d'inoculation. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
B6 du 27 mars (pomme de terre) .	54	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	13 mai 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
B6 du 27 mars (pomme de terre) .	55	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	18 mai 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux et sous-lombaires qui contiennent quelques bacilles acido-résistants.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre) .	56	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	12 juin 1931.	Trace d'abcès. Ganglions ingui-

B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	57	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	11 mai 1931.	rate avec de rares bacilles acido-résistants et sur le foie. On broie la rate, et on l'incule à trois cobayes (voir tableau VII) après l'avoir traitée par l'acide sulfurique à 10 p. 100. Abcès. Légère tuméfaction des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	58	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	6 juillet 1931.	Sacrifié. Abcès. Légère tuméfaction des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	59	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	28 mai 1931.	Abcès. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	60	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	15 mai 1931.	Abcès. Ganglions inguinaux légèrement hypertrophiés; sous-lombaires normaux contenant quelques bacilles acido-résistants.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	61	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	7 juillet 1931.	Sacrifié. Abcès. Ganglions inguinaux légèrement hypertrophiés; sous-lombaires normaux contenant quelques bacilles acido-résistants.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	62	15 milligr., P. C.	6 mai 1931.	7 juillet 1931.	Sacrifié. Abcès. Ganglions inguinaux légèrement hypertrophiés; sous-lombaires normaux contenant quelques bacilles acido-résistants.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	63	15 milligr., P. C.	13 mai 1931.	8 juillet 1931.	Sacrifié. Abcès. Ganglions inguinaux légèrement hypertrophiés; sous-lombaires normaux contenant quelques bacilles acido-résistants.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	64	15 milligr., P. C.	13 mai 1931.	8 juillet 1931.	Sacrifié. Abcès. Ganglions inguinaux légèrement hypertrophiés; sous-lombaires normaux contenant quelques bacilles acido-résistants.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	65	15 milligr., P. C.	13 mai 1931.	8 juillet 1931.	Sacrifié. Abcès. Ganglions inguinaux légèrement hypertrophiés; sous-lombaires normaux contenant quelques bacilles acido-résistants.
B6 du 17 avril (voile fin, p. de terre).	66	15 milligr., P. C.	13 mai 1931.	8 juillet 1931.	Sacrifié. Abcès. Ganglions inguinaux légèrement hypertrophiés; sous-lombaires normaux contenant quelques bacilles acido-résistants.

TABLEAU V. — Lapins.

NUMÉRO ET DATE de la culture	N ^{os} des lapins	DOSE inoculée par voie veineuse en milligr.	DATE de l'inoculation	DATE de la mort	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
B5 du 28 février. . . . B5 du 28 février. . . .	43 44	40 40	25 mars 1931. 25 mars 1931.	26 mars 1931. 8 juillet 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse. Un petit abcès sous pleural (lentille) indemne de bacilles acido-résistants. Aucune lésion tuberculeuse. Aucune lésion tuberculeuse.
B5 du 28 février. . . . B5 du 28 février. . . . B6 du 27 mars (voile fin + voile épais)	45 46 47	40 40 45	25 mars 1931. 25 mars 1931. 6 mai 1931.	22 avril 1931. 44 avril 1931. 4 juin 1931.	
B6 du 27 mars (voile fin + voile épais) B6 du 27 mars (voile fin + voile épais)	48 49	45 45	6 mai 1931. 6 mai 1931.	5 juin 1931. 30 mai 1931.	
B6 du 27 mars (voile fin + voile fin)	45	45	6 mai 1931.	7 juillet 1931. 27 mai 1931.	
B6 du 27 mars (voile fin) + voile épais) B6 du 27 mars (voile fin) + voile épais) B6 du 27 mars (voile fin) + voile épais)	20 24 22 23 24	45 45 45 45 45	6 mai 1931. 6 mai 1931. 6 mai 1931. 6 mai 1931. 13 mai 1931.	7 juillet 1931. 27 mai 1931. 40 juin 1931. 7 juillet 1931. 6 juillet 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse. Aucune lésion tuberculeuse. Aucune lésion tuberculeuse. Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse. A la base d'un des poumons quatre petits épais- sissements pleuraux nodulaires dans lesquels on ne trouve pas de bacilles acido-résistants. Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse. Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse. Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
B6 du 17 avril (voile fin). B6 du 17 avril (voile fin). B6 du 17 avril (voile fin). B6 du 17 avril (voile fin).	25 26 27	45 45 45	43 mai 1931. 43 mai 1931. 43 mai 1931.	7 juillet 1931. 7 juillet 1931. 7 juillet 1931.	

TABLEAU VI. — Cobayes inoculés avec les lésions du cobaye n° 42. (Voir tableau IV.)

NUMÉROS des cobayes	DATE de l'inoculation	DATE de la mort	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
46 47 48	20 avril 1931. 20 avril 1931. 20 avril 1931.	22 avril 1931. 22 avril 1931. 49 mai 1931.	Ganglions inguinaux hypertrophiés et hémorragiques. Ganglions inguinaux hypertrophiés et hémorragiques. Sacrifié mourant. Pseudo-tuberculeuse. Le ganglion inguinal hypertrophié et purulent contient de rares bacilles acido-résistants et de nombreux cocco-bacilles de Malassez et de Vignal (culture).

TABLEAU VII. — Cobayes inoculés avec la rate broyée du cobaye n° 56. (Voir tableau IV.)

NUMÉROS des cobayes	DATE de l'inoculation	DATE de la mort	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
67 68 69	42 juin 1931. 42 juin 1931. 42 juin 1931.	43 juillet 1931. 47 juillet 1931. 47 juillet 1931.	Intradermo négative le 30 juin et le 40 juillet. Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse. Intradermo négative le 30 juin et le 40 juillet. Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.

SÉRIE C — BCG 401.


TABLEAU VIII. — Cobayes.

NUMÉRO ET DATE de l'inoculation	NUMÉRO des cobayes	DOSE ET VOIE de l'inoculation	DATE de l'inoculation	DATE de la mort	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
C 4 du 24 février.	70	10 milligr., P. C.	25 mars 1931	15 avril 1931.	Petit abcès au point d'inoculation. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
C 4 du 24 février.	71	10 milligr., P. C.	25 mars 1931.	17 avril 1931.	Petit abcès au point d'inoculation. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
C 4 du 24 février.	72	40 milligr., P. C.	25 mars 1931.	20 avril 1931.	Petit abcès au point d'inoculation. Légère hypertrophie des ganglions inguinaux et sous-lombaires.
C 4 du 24 février.	73	40 milligr., I. P.	25 mars 1931.	20 avril 1931	Aucune lésion tuberculeuse.
C 4 du 24 février.	74	40 milligr., I. P.	25 mars 1931.	4 juillet 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
C 4 du 24 février.	75	10 milligr., I. P.	25 mars 1931	4 juillet 1931.	Sacrifié. Aucune lésion tuberculeuse.
C 6 du 17 avril (pomme de terre).	76	15 milligr., P. C.	13 mai 1931.	8 juillet 1931	Sacrifié. Abcès au point d'inoculation. Ganglions inguinaux et sous-lombaires légèrement hypertrophiés
C 6 du 17 avril (pomme de terre).	77	15 milligr., P. C.	13 mai 1931.	8 juillet 1931.	Sacrifié. Abcès au point d'inoculation. Ganglions inguinaux et sous-lombaires légèrement hypertrophiés.
C 6 du 17 avril (pomme de terre).	78	15 milligr., P. C.	13 mai 1931.	8 juillet 1931.	Sacrifié. Abcès au point d'inoculation. Ganglions inguinaux et sous-lombaires légèrement hypertrophiés.
C 6 du 17 avril (pomme de terre).	79	15 milligr., P. C.	13 mai 1931.	8 juillet 1931.	Sacrifié. Accès au point d'inoculation. Ganglions inguinaux et sous-lombaires légèrement hypertrophiés. Pseudo-tuberculose (Malassez et Vignal) de la rate et des ganglions mésentériques.

Les cultures sur le milieu de Sauton + sérum de lapin ont fourni un voile épais, plissé, qui s'est étendu rapidement à la surface du milieu.

Aucun des 69 cobayes et des 33 lapins qui reçurent par voie sous-cutanée, par voie péritonéale ou par voie veineuse, des doses de ces trois souches, dix ou quinze fois supérieures à celles que Sasano et Medlar ont employées, n'a présenté le moindre signe de tuberculose. Quel qu'ait été le nombre des passages du BCG sur le milieu de Sauton + sérum de lapin, les lésions que nous avons observées à l'autopsie de ces animaux, au lieu

TABLEAU IX. — **Lapins.**

NUMÉRO ET DATE de l'inoculation	N ^{os} des lapins	DOSES inoculées par voie veineuse en milligr.	DATE de l'inoculation	DATE de la mort	RÉSULTATS des autopsies
C 4 du 27 février.	28	40	25 mars 1931.	26 mars 1931.	
C 4 du 27 février.	29	40	25 mars 1931.	17 avril 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
C 6 du 27 avril (pomme de terre) .	30	45	13 mai 1931.	22 mai 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
C 6 du 27 avril (pomme de terre) .	31	45	13 mai 1931.	12 juin 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
C 6 du 27 avril (pomme de terre) .	32	45	13 mai 1931.	8 juillet 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.
C 6 du 27 avril (pomme de terre) .	33	45	13 mai 1931.	8 juillet 1931.	Aucune lésion tuberculeuse.

même de l'inoculation (abcès, hypertrophie des ganglions correspondants, nodules épiploïques ou péritonéaux, intéressant parfois la capsule de la rate et celle du foie), offraient les mêmes caractères bénins et transitoires que les lésions locales, provoquées par les inoculations de BCG tel quel; en outre elles ont toujours évolué, dans les mêmes délais, vers la guérison complète. Les mêmes causes d'erreurs, qui ont conduit certains auteurs à attribuer au BCG des formations pathologiques d'aspect tuberculeux, dont d'autres germes, le cocco-bacille de la pseudo-tuberculose des rongeurs en particulier, étaient seuls responsables, ont pu être facilement dénoncées soit par l'examen microscopique, soit par la culture sur les milieux arti-

ficiels, soit enfin par l'inoculation des altérations suspectes.

En résumé, bien que nous ayons suivi très exactement les indications techniques de Sasano et Medlar, et répété nos expériences avec trois souches différentes, nous n'avons constaté aucune modification des propriétés pathogènes du BCG cultivé en série sur le milieu de Sauton additionné de sérum frais de lapin.

D'une manière générale, d'ailleurs, si, comme nous l'avons exposé au début de cette note, on peut augmenter *in vitro* la virulence d'un microbe affaibli, les exemples d'une telle transformation sont, en réalité, extrêmement rares. Petroff, même, qui avait tout d'abord affirmé que les colonies R avirulentes du BCG font retour au type S après cinq ou six passages sur des milieux contenant du sérum anti-R et que cette réversion pourrait être également obtenue dans des milieux additionnés de sérum normal de lapin, n'a plus insisté dans la suite sur ce point.

Au reste, les germes S, dissociés par les trois auteurs américains, diffèrent non seulement par leur virulence propre, mais aussi par ce fait que les bacilles S de Petroff sont peu pathogènes pour le lapin et présentent les caractères du type humain, alors que les bacilles de Sasano et Medlar, très virulents pour le lapin et pour les bovidés, appartiennent incontestablement au type bovin. Nous leur laissons le soin d'expliquer cette divergence.

Sans doute, il n'est pas extravagant d'admettre que l'on pourrait parvenir à modifier les caractères morphologiques ou biochimiques du BCG, voire ses propriétés pathogènes, en le soumettant à des artifices expérimentaux divers. Mais il faut convenir que la preuve irréfutable d'une telle transformation, partielle ou totale, brusque ou progressive, temporaire ou définitive, n'a pas encore été donnée.

Lorsqu'ils constatent un fait exceptionnel, les bactériologistes, même les plus experts, l'accueillent avec une prudente réserve jusqu'au moment où ils réussissent à déterminer toutes les conditions qui permettent de le reproduire régulièrement. Sasano et Medlar ne paraissent pas avoir observé cette règle. Les résultats négatifs de nos recherches nous autorisent à penser qu'une erreur s'est glissée dans les essais de ces auteurs et qu'ils en reconnaîtront aisément la cause en répétant l'unique expérience positive sur laquelle ils ont hâtivement fondé leurs conclusions.

CONTRIBUTION A LA MISE EN ÉVIDENCE RAPIDE DE L'ULTRAVIRUS TUBERCULEUX

par F. van DEINSE.

(*Institut Pasteur. Laboratoire de la tuberculose.*)

Valtis, Nègre, Boquet et M^{lle} Certonciny (1) ont montré qu'en injectant du filtrat de cultures jeunes de bacilles tuberculeux dans le péritoine de cobayes, on peut trouver les bacilles issus de l'ultravirus tuberculeux dans les ganglions mésentériques et dans le liquide péritonéal quarante-huit heures après l'injection du filtrat. Ces bacilles disparaissent vers le huitième jour. Nous avons, pour la première fois, repris cette expérience avec A. Saenz en avril 1929, et notre expérience a pleinement confirmé leur observation :

Cinq cobayes furent inoculés dans le péritoine, chacun avec 10 cent. cubes d'un filtrat de 10 voiles sur Sauton, âgés de cinq jours, de la souche bovine Vallée.

Chez le premier cobaye, sacrifié trois jours après l'injection du filtrat, nous avons trouvé des bacilles acido-résistants dans un ganglion mésentérique.

Chez le deuxième cobaye, sacrifié cinq jours après l'injection, aucun élément acido-résistant ne fut décelé.

Le troisième cobaye, sacrifié sept jours après l'injection, fut également négatif.

Les quatrième et cinquième cobayes, laissés en vie comme témoins, sont morts, environ six mois plus tard, sans présenter de lésions tuberculeuses ni bacilles à l'examen microscopique.

Depuis, au cours de recherches sur la culture de l'ultravirus tuberculeux, nous avons utilisé ce procédé comme test de la présence de l'ultravirus dans les filtrats. Dans sept séries d'expériences, l'inoculation de filtrat de cultures ou d'organes

(1) C. R. Soc. de Biol., 97, 17 décembre 1927, p. 1667.

tuberculeux a toujours permis de mettre en évidence les bacilles issus de l'ultravirus, en sacrifiant les cobayes quarante-huit ou soixante-douze heures après l'injection intrapéritonéale de filtrat. Nous en rapportons brièvement ci-après les protocoles.

Première série. — Deux cobayes reçoivent chacun dans le péritoine 10 cent. cubes d'un filtrat de voile sur Sauton âgé de cinq jours, de la souche bovine Vallée.

L'un des deux est sacrifié quarante-huit heures plus tard. Dans les ganglions mésentériques on trouve de nombreux amas caractéristiques de bacilles acido-résistants.

Les cobayes de passage, inoculés avec les ganglions de ce cobaye (jusqu'au troisième passage) ont donné des résultats négatifs.

Le deuxième cobaye est mort spontanément d'une infection secondaire, sans présenter de lésions tuberculeuses.

Deuxième série. — Deux cobayes sont inoculés avec 10 cent. cubes de 2 voiles sur Sauton, âgés respectivement de quatre et de huit jours, de la souche bovine Vallée, l'un dans le péritoine, l'autre sous la peau de la cuisse.

Le cobaye inoculé par voie intrapéritonéale est sacrifié quarante-huit heures après. Dans un ganglion mésentérique on trouve des bacilles acido-résistants isolés.

Quatre passages successifs ont été inoculés en partant de ce cobaye; seul le deuxième passage a présenté plusieurs amas de bacilles acido-résistants dans un ganglion sous lombaire. Les passages ultérieurs furent négatifs.

Le cobaye inoculé par voie sous-cutanée est mort un mois après, sans présenter de lésions tuberculeuses.

Troisième série. — Trois cobayes reçoivent chacun 10 cent. cubes d'un filtrat de voile de cinq jours sur Sauton de la souche bovine Vallée (deux par voie intrapéritonéale, le troisième par voie sous-cutanée).

Un cobaye, inoculé par voie intrapéritonéale, est sacrifié quarante-huit heures après. On trouve un amas de bacilles acido-résistants dans un monocyte du liquide péritonéal, et un autre amas dans un ganglion mésentérique.

Les deux autres cobayes sont sacrifiés trois mois après : pas de lésions, pas de bacilles.

Quatrième série. — Un cobaye reçoit 10 cent. cubes d'un filtrat de 4 voiles sur Sauton, âgés de sept jours, de la souche bovine Vallée par voie intrapéritonéale.

Trois cobayes reçoivent chacun 12 cent. cubes du même filtrat par voie sous-cutanée.

Le cobaye inoculé dans le péritoine est sacrifié quarante-huit heures après. Dans un ganglion mésentérique on trouve deux amas de bacilles acido-résistants.

Un cobaye, inoculé par voie sous-cutanée, est sacrifié quatorze jours plus tard. Dans un ganglion trachéo-bronchique on trouve un amas de bacilles acido-résistants. Les cobayes de passage, inoculés avec les ganglions de ce cobaye, ont tous donné des résultats négatifs (trois passages successifs).

Les deux autres cobayes, inoculés par voie sous-cutanée, sont morts de

maladies secondaires huit et neuf mois plus tard : aucune lésion tuberculeuse, pas de bacilles.

Cinquième série. — Un cobaye reçoit 10 cent. cubes d'un filtrat de foie et de rate, provenant de deux cobayes tuberculeux (souche bovine Vallée), par voie intrapéritonéale.

Deux cobayes reçoivent respectivement 6 et 8 cent. cubes du même filtrat par voie sous-cutanée.

Le cobaye inoculé par voie intrapéritonéale est sacrifié soixante-douze heures après. Un petit ganglion épiploïque contient *un peu de pus*. Dans le frottis de ce pus on trouve une *quantité formidable* de bacilles acido-résistants, en de très volumineux amas ou isolés. Quelques petits amas de bacilles sont encore trouvés dans un autre ganglion épiploïque.

Les deux témoins, inoculés par voie sous-cutanée, sont morts respectivement trente-six et cinquante-neuf jours après, d'infections secondaires : aucune lésion tuberculeuse, pas de bacilles.

Sixième série. — Un cobaye reçoit dans le péritoine 6 cent. cubes d'un filtrat de foie et de rate d'un cobaye tuberculeux (souche humaine Rati).

Un autre cobaye est inoculé avec 4 cent. cubes du même filtrat par voie sous-cutanée.

Le cobaye inoculé par voie intrapéritonéale est sacrifié quarante-huit heures après. On ne trouve pas de bacilles dans les frottis des ganglions mésentériques. Le reste des ganglions est traité à l'acide sulfurique à 6 p. 100 et ensemencé sur milieu à l'œuf-hématine selon Hohn, et après dix-neuf jours les frottis du produit de raclage de ces cultures contiennent plusieurs bacilles acido-résistants isolés, granuleux, la plupart courts, qui ne se sont pas développés dans la suite.

Le témoin vit toujours (six mois) en parfaite santé.

Septième série. — Un cobaye reçoit, par voie intrapéritonéale, 10 cent. cubes d'un filtrat de trois rates de cobayes tuberculeux (souche bovine Vallée).

Un autre cobaye reçoit 4 cent. cubes du même filtrat par voie sous-cutanée.

Le premier cobaye est sacrifié soixante-douze heures après l'inoculation intrapéritonéale. Un ganglion mésentérique contient plusieurs amas de bacilles acido-résistants.

Le cobaye témoin est mort sept jours après l'inoculation. Les ganglions et la rate de ce cobaye sont inoculés à un cobaye de passage, qui meurt à son tour onze jours après, sans présenter de bacilles, ni au point d'inoculation, ni dans les ganglions satellites.

Par conséquent, l'inoculation intrapéritonéale de filtrat permet, pratiquement dans 100 p. 100 des cas, de mettre en évidence l'ultravirus tuberculeux, lorsque celui-ci est présent dans le filtrat.

Toutefois, cette mise en évidence nécessite souvent de très longues recherches dans les frottis. Nous nous sommes efforcé de rendre cette recherche moins fastidieuse, et pour y parvenir nous avons d'abord essayé de concentrer l'ultravirus, en créant dans le filtrat un précipité susceptible de l'adsorber et, après centrifugation, de réunir pratiquement tous les éléments

d'ultravirus contenus dans le filtrat, dans le petit volume du culot.

Nous nous sommes adressé d'abord à du filtrat d'organes dans lequel l'albumine a été précipitée par quelques gouttes d'une solution à 20 p. 100 d'acide sulfosalicylique.

Voici brièvement résumés les protocoles de deux expériences faites d'après cette méthode :

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — D'un filtrat de rate, foie et ganglions d'un cobaye tuberculeux (souche bovine Vallée), 5 cent. cubes sont injectés à chacun de deux cobayes par voie intrapéritonéale. L'un est mort le lendemain, l'autre est sacrifié trois jours après l'injection. On ne trouve de bacilles ni chez l'un ni chez l'autre, mais dans le produit de raclage des milieux à l'œuf-hématine, ensemencés avec les ganglions de ces deux cobayes traités à l'acide sulfurique, on trouve, seize à dix-huit jours après l'ensemencement, quelques bacilles acido-résistants isolés qui, dans la suite, ne se sont pas développés.

Dans le reste du filtrat (20 cent. cubes) l'albumine est précipitée par IV gouttes d'acide sulfosalicylique à 20 p. 100 et, après une centrifugation de dix minutes, le liquide surnageant est décanté, et le culot émulsionné dans 10 cent. cubes de liquide de Sauton, après ensemencement d'une partie du culot sur différents milieux de culture (Ces cultures sont restées stériles).

Deux cobayes sont inoculés par voie intrapéritonéale, chacun avec la moitié de l'émulsion du culot, et 2 autres cobayes reçoivent également par voie intrapéritonéale chacun 10 cent. cubes du liquide surnageant.

Un cobaye ayant reçu l'émulsion du culot meurt trois jours après l'inoculation. Dans un ganglion mésentérique on trouve quelques petits amas de bacilles acido-résistants. L'ensemencement des ganglions sur œuf-hématine n'a pas donné de développement.

L'autre cobaye, inoculé avec le culot, est mort vingt-six jours après l'injection, d'une infection secondaire : aucune lésion tuberculeuse, pas de bacilles. 2 cobayes de passage sont restés négatifs.

Un cobaye, inoculé avec le liquide surnageant, est mort trente-six heures après l'injection d'une pasteurellose. Dans l'épiploon se trouvent quelques petits foyers de pus, et dans les frottis de ce pus on trouve quelques *grands amas de bacilles acido-résistants*. Les cultures, ensemencées avec ce pus traité à l'acide sulfurique, ont toutes été contaminées.

L'autre cobaye, inoculé avec le liquide surnageant, est mort seize jours après l'injection, d'une péritonite : aucune lésion tuberculeuse, pas de bacilles.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Un filtrat de rate et de foie d'un cobaye tuberculeux (souche bovine Vallée) est traité de la même manière avec quelques gouttes d'acide sulfosalicylique à 20 p. 100, mais cette fois-ci la centrifugation dure une demi-heure (à 3.000 tours) le culot est inoculé à 3 cobayes, par voie intrapéritonéale, et le liquide surnageant à 2 cobayes, également par voie intrapéritonéale.

Un cobaye inoculé avec le culot est sacrifié trois jours après. On ne trouve aucun bacille dans ses ganglions.

Le deuxième cobaye inoculé avec le culot meurt cinquante jours après l'injection, d'une pseudo-tuberculose : pas de bacilles.

Le troisième cobaye a reçu le culot suspendu dans de l'extrait acétonique de bacilles tuberculeux (selon Boquet et Nègre), et est traité dans la suite par seize injections bi-hebdomadaires sous cutanées d'extrait acétonique, qui ont provoqué des abcès inguinaux. L'ensemencement du pus de ces abcès a donné une culture de bacilles acido-résistants, dont il sera question dans une publication ultérieure.

Un cobaye inoculé avec le liquide surnageant est sacrifié trois jours après. L'épiploon contient un petit *foyer nécrotique*, et dans les frottis de cette substance nécrotique on trouve de *très nombreux bacilles acido-résistants*, en amas et isolés. Les ensemencements des ganglions sont restés négatifs.

L'autre cobaye, inoculé avec le liquide surnageant, est mort d'une pseudo-tuberculose quatre-vingt-huit jours après l'injection : aucune lésion tuberculeuse, pas de bacilles.

Par conséquent l'ultravirus n'a été ni adsorbé, ni entraîné par le précipité albumineux.

Nous avons alors essayé d'atteindre le but que nous poursuivions en utilisant le procédé employé pour la première fois par M. Roux pour la précipitation des toxines. Nous avons donc provoqué un précipité dans le filtrat, en y ajoutant n gouttes de chlorure de calcium à 5 p. 100 et IV n gouttes de phosphate disodique à 5 p. 100. On obtient ainsi un précipité gélatineux et floconneux de phosphate de calcium. Nous espérons entraîner ainsi dans le culot de centrifugation la totalité de l'ultravirus contenu dans le filtrat.

Après quelques échecs dus à un dosage trop élevé ou insuffisant des deux sels, nous sommes arrivé à fixer les doses à XII gouttes de phosphate disodique et III gouttes de chlorure de calcium à 5 p. 100 par 10 cent. cubes de filtrat, celui-ci ayant été préparé avec de l'eau physiologique. Les deux expériences suivantes montreront les résultats de cette technique.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — 40 cent. cubes de filtrat de 10 voiles sur Sauton, âgés de six jours, de la souche bovine Vallée, dans lequel un précipité floconneux de phosphate de calcium a été provoqué de la manière décrite ci-dessus, sont centrifugés pendant une demi-heure à 3.000 tours.

Six cobayes sont inoculés par voie intrapéritonéale, dont 3 avec le culot et 3 avec le liquide surnageant.

Un cobaye inoculé avec le culot est sacrifié trois jours après. L'épiploon contient quelques *petits amas de pus*, et, dans le frottis de celui-ci, on trouve, après quelques minutes de recherche, de *nombreux amas volumineux de petits bacilles acido-résistants*. Dans le frottis d'un ganglion épiploïque par contre on ne trouve qu'un seul petit amas de bacilles.

Le deuxième cobaye inoculé avec le culot meurt cent quatre jours après l'injection : aucune lésion tuberculeuse, pas de bacilles.

Le troisième cobaye inoculé avec le culot vit encore (quatre mois) et est en parfait état.

Un cobaye inoculé avec le liquide surnageant est sacrifié trois jours après; dans ses ganglions on ne trouve aucun bacille.

Le deuxième cobaye inoculé avec le liquide surnageant meurt sept jours après : pas de bacilles; le troisième vit encore (quatre mois) en parfaite santé.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Un filtrat de 10 voiles sur Sauton âgés de cinq jours (souche bovine Vallée), précipité comme dans l'expérience précédente et centrifugé, est inoculé à 6 cobayes, dont 3 reçoivent le culot par voie intrapéritonéale, et 3 le liquide surnageant, également par voie intrapéritonéale.

Un cobaye inoculé avec le culot est sacrifié quatre jours après. L'épiploon, le péritoine viscéral et pariétal contiennent de *nombreux grains de pus*, et dans les frottis de ce pus on trouve *de très nombreux bacilles acido-résistants* en amas et isolés. Les ensemencements de ce pus sur milieu à l'œuf-asparagine (milieu de Löwenstein sans colorant) sont restés négatifs.

Le deuxième cobaye, inoculé dans le péritoine avec le culot, est traité par des injections bi-hebdomadaires sous-cutanées d'extrait acétonique. Sacrifié après seize de ces injections, il présente aux points d'inoculation de l'extrait acétonique, des abcès contenant de nombreux bacilles acido-résistants et l'ensemencement du pus de ces abcès sur milieu de Löwenstein a donné des cultures de bacilles acido-résistants, dont il sera question dans une publication ultérieure.

Le troisième cobaye inoculé avec le culot vit encore en parfait état de santé (trois mois).

Un cobaye inoculé avec le liquide surnageant est sacrifié quatre jours après. Dans l'épiploon on trouve *un petit grain de pus* et les frottis de ce pus contiennent une *quantité formidable de bacilles acido-résistants*, isolés ou en de très volumineux amas. Les ensemencements de ce pus sur milieu à l'œuf-asparagine sont restés négatifs.

Le deuxième cobaye inoculé avec le liquide surnageant est traité par seize injections bi-hebdomadaires d'extrait acétonique. Lui aussi a eu des abcès, dont le pus, contenant des bacilles, ensemencé sur milieu de Löwenstein, a fourni des cultures de bacilles acido-résistants, qui sont encore à l'étude.

Le troisième cobaye inoculé avec le liquide surnageant vit encore (trois mois) et est parfaitement normal.

La première de ces deux expériences semble indiquer que le précipité de phosphate de calcium capte effectivement tout l'ultravirus dans le filtrat, mais la seconde prouve qu'il n'en est rien, et qu'une partie au moins reste en suspension dans le liquide surnageant.

Or, c'est précisément la présence d'un grain de pus dans l'épiploon, réaction à l'introduction d'un corps étranger dans le péritoine, qui a permis de mettre facilement en évidence les bacilles issus de l'ultravirus chez le cobaye inoculé avec le

liquide surnageant. C'est d'ailleurs toujours dans du pus ou de la substance nécrotique qu'on les trouve en grand nombre, comme on a pu s'en rendre compte à la lecture des différents protocoles cités dans ce mémoire. Et comme les deux dernières expériences ont montré que le phosphate de calcium provoque dans le péritoine la formation d'assez nombreux amas de pus, il était tout indiqué d'essayer de créer d'abord de ces amas de pus chez les cobayes, avant de leur inoculer le filtrat, afin que l'ultravirus trouve d'emblée un milieu favorable à son développement *in vivo*. On injecte donc dans le péritoine d'un cobaye du phosphate de calcium, obtenu par le mélange de 2 cent. cubes de phosphate disodique à 5 p. 100 et 1/2 cent. cube de chlorure de calcium à 5 p. 100 et un ou deux jours après on lui inocule du filtrat, également par voie intrapéritonéale. Les deux expériences suivantes montrent quels ont été les résultats de cette méthode :

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Trois cobayes sont inoculés par voie intrapéritonéale avec 2 cent. cubes 1/2 de suspension de phosphate de calcium précipité. Deux jours après ils reçoivent, également par voie intrapéritonéale, chacun 8 cent. cubes d'un filtrat de 9 voiles sur Sauton âgés de cinq jours (souche bovine Vallée).

Le premier cobaye est sacrifié deux jours après l'injection du filtrat. Dans l'épiploon on trouve quelques petits amas de pus, et celui-ci contient de très nombreux bacilles acido-résistants en amas et isolés. Lesensemencements de ce pus sont restés négatifs. Dans les ganglions épiploïques on trouve également des amas de bacilles acido-résistants.

Le deuxième cobaye est sacrifié trois jours après l'injection du filtrat. L'épiploon est farci d'amas de pus, qui contiennent de très nombreux bacilles acido-résistants en amas et isolés. Lesensemencements du pus sur milieu à l'œuf-asparagine sont restés négatifs. Les ganglions épiploïques contiennent également de nombreux bacilles en amas et isolés.

Le troisième cobaye vit encore (deux mois) en parfaite santé.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Trois cobayes sont traités comme les précédents par injection intrapéritonéale de phosphate de calcium précipité, et reçoivent chacun, trois jours plus tard, par voie intrapéritonéale, 10 cent. cubes d'un filtrat de 9 voiles sur Sauton, âgés de cinq jours, de la souche bovine Vallée.

Le premier cobaye est sacrifié trois jours après l'injection du filtrat. Il y a des grains de pus dans l'épiploon ainsi que sur le péritoine pariétal et viscéral; dans les frottis de ce pus on trouve une grande quantité de bacilles acido-résistants en amas et isolés. Le pus, traité avec de l'acide sulfurique à 40 p. 100, estensemencé sur milieu de Löwenstein, avec résultat négatif. Un ganglion épiploïque contient quelques bacilles isolés.

Le deuxième cobaye est mort trois jours après l'injection du filtrat. Le

péritoine, notamment l'épiploon, contiennent de nombreux amas de pus, et dans ceux-ci on trouve un grand nombre de bacilles acido-résistants isolés et en amas.

Le troisième cobaye vit encore en bonne santé (deux mois).

Bien entendu, nous avons pris soin de vérifier, par des expériences de contrôle, que les bacilles trouvés dans le pus provenaient bien du filtrat inoculé et non pas de l'organisme du cobaye. A cette fin, 6 cobayes ont reçu du phosphate de calcium précipité par voie intrapéritonéale, préparé de la même manière que dans les expériences qu'on vient de lire. Ces animaux ont été sacrifiés ou sont morts deux à quatre jours après l'injection du précipité. Jamais aucun bacille acido-résistant n'a pu être trouvé dans le pus du péritoine de ces animaux.

Il a semblé également intéressant de voir si les bacilles, trouvés en si grand nombre dans le pus des animaux traités, ne pouvaient pas provenir de quelques bacilles qui auraient traversé les bougies, bien que cela fût contraire à tout ce que nous savons de la multiplication des bacilles tuberculeux dans l'organisme animal. Nous avons donc inoculé 5 cobayes par voie intrapéritonéale, chacun avec 1/10.000 milligramme de bacilles tuberculeux virulents (souche bovine Vallée), dont 4 avaient été traités auparavant par une injection intrapéritonéale de phosphate de calcium précipité, et 1 avait reçu la dose de bacilles suspendue dans 3 cent. cubes d'émulsion de phosphate de calcium précipité. Deux de ces cobayes furent sacrifiés trois jours après l'injection virulente. Dans les frottis du pus on n'a pu trouver aucun bacille. Un cobaye fut sacrifié sept jours après l'injection virulente : le pus ne contenait encore aucun bacille à l'examen microscopique. Chez le quatrième enfin, sacrifié le seizième jour de l'infection, le péritoine était farci de granulations grises ; on trouva encore un amas de pus provenant du phosphate, et qui contenait des bacilles acido-résistants isolés. Le cinquième fut sacrifié le vingtième jour de l'injection virulente ; il présentait une tuberculose péritonéale bien développée, avec commencement de généralisation.

CONCLUSIONS.

L'inoculation intrapéritonéale de filtrat chez le cobaye est un moyen très sûr de mise en évidence de l'ultravirus tubercu-

leux, pourvu que l'on sacrifie les animaux deux à quatre jours après l'inoculation.

Le développement des bacilles acido-résistants issus de l'ultravirus est particulièrement favorisé par la présence de pus dans le péritoine.

On peut provoquer artificiellement la formation de pus dans le péritoine du cobaye en injectant du phosphate de calcium précipité, un ou deux jours avant l'injection intrapéritonéale du filtrat. L'ultravirus trouve dans le pus un milieu de culture *in vivo* favorable au développement des bacilles acido-résistants, et ceux-ci s'y rencontrent souvent en si grand nombre que les recherches sont considérablement facilitées. On fera bien toutefois de faire en même temps des frottis des ganglions mésentériques et épiploïques.

Les bacilles qu'on trouve dans le pus ne proviennent ni de l'organisme du cobaye, ni de bacilles ayant traversé les bougies.

Ce procédé permet de poser le diagnostic différentiel entre l'ultravirus et la forme bacillaire du virus tuberculeux dans les produits pathologiques. L'ultravirus donne naissance à des amas caractéristiques de bacilles acido-résistants dans les trois premiers jours après l'inoculation, puis ceux-ci disparaissent vers le huitième jour, tandis que les bacilles virulents n'apparaissent que vers le dixième jour dans le pus péritonéal, et ne sont jamais groupés en amas.

VACCINATION PRÉMUNITIVE ANTITUBERCULEUSE EN ALGÉRIE PAR LE BCG DURANT L'ANNÉE 1930

par EDM. SERGENT et M^{me} H. DUCROS-ROUGEBIEF.

Le nombre des vaccinations pratiquées a été de	2.292
Le nombre des premières revaccinations effectuées à l'expiration de la première année, chez les enfants vaccinés à la naissance, a été de	386
Le nombre des deuxièmes revaccinations effectuées à l'expiration de la troisième année, chez les enfants vaccinés à la naissance et revaccinés déjà à l'expiration de la première année, a été de	34

Au cours de cette année 1930, nous avons pu suivre 468 enfants ayant été vaccinés depuis un an.

Sur ces 468 enfants suivis, nous savons que <i>le nombre de ceux qui ont vécu exposés à des contacts tuberculeux connus</i> atteint.	417
Parmi ces derniers, le nombre des vivants à l'expiration de la première année est de	409
Le nombre des morts est de	8
dont, morts de maladies non tuberculeuses	6
et morts de maladies présumées tuberculeuses.	2
Ainsi, <i>pour ce groupe de vaccinés exposés à des contacts tuberculeux connus</i> , la mortalité pour cent par tuberculose a été de	1,70
et la mortalité générale pour cent par toutes causes de maladies a été de	6,83
Le nombre des enfants vaccinés suivis pendant un an et <i>qui n'ont pas été exposés à des contacts tuberculeux connus</i> atteint.	351

Parmi eux le nombre des vivants, à l'expiration de la première année, est de	311
Le nombre des morts est de	40
dont, morts de maladies non tuberculeuses	39
et mort de maladie présumée tuberculeuse	1
Ainsi, pour ce groupe de vaccinés <i>non exposés à des contacts tuberculeux connus</i> , la mortalité pour cent par tuberculose a été de	0,33
et la mortalité générale pour cent par toutes causes de maladies a été de	11,39

Pour l'ensemble de tous les vaccinés, suivis en l'année 1930, dont le nombre s'élève à 463, comme nous le disons plus haut, considérant ceux en contact et ceux non en contact, la mortalité pour cent par tuberculose durant la première année de la vie a été de . .	0,64
et la mortalité générale pour cent par toutes causes de maladies a été de	10,25

* .

D'autre part, les enquêtes que nous avons poursuivies au cours de cette année 1930, sur les anciens vaccinés (des années 1924, 1925, 1926, 1927, 1928), nous ont permis de compléter, comme il est relaté plus bas, nos statistiques générales.

Nombre total des enfants vaccinés du 8 novembre 1924 au 31 décembre 1930	7.831
Nombre total des enfants revaccinés pour la première fois à l'expiration de la première année	920
Nombre total des enfants revaccinés pour la deuxième fois à l'expiration de la troisième année	112

Sur ces 7.831 enfants vaccinés, le nombre total de ceux qui ont pu être suivis s'élève à	1.667
Parmi ces 1.667 enfants suivis, le nombre de ceux qui ont vécu exposés à des contacts tuberculeux connus est de	375

Sur ces 375 enfants, nous savons que le nombre des vivants à l'expiration de la première année a été de .	336
Le nombre total des morts	39
dont, morts de maladies présumées tuberculeuses . .	8
et morts de maladies non tuberculeuses	31
Ainsi, durant la première année de la vie, la mortalité pour cent par tuberculose, <i>pour ce groupe d'enfants exposés à des contacts tuberculeux connus</i> , a été de .	2,13
et la mortalité générale pour cent par toutes causes de maladies a été de	10,40

Parmi les 1.667 enfants suivis, le nombre de ceux qui ont vécu <i>non exposés à des contacts tuberculeux connus</i> est de	1 292
Sur ces 1.292 enfants, nous savons que le nombre des vivants à l'expiration de la première année a été de .	1.125
Le nombre total des morts	167
dont, morts de maladies présumées tuberculeuses . .	3
et morts de maladies non tuberculeuses	164
Ainsi, durant la première année de la vie, la mortalité pour cent par tuberculose <i>pour ce groupe d'enfants non exposés à des contacts tuberculeux connus</i> a été de	0,23
et la mortalité générale pour cent par toutes causes de maladies a été de	12,92

Pour l'ensemble de tous les vaccinés suivis dont, comme nous le disons plus haut, le nombre s'élève à 1.667, considérant ceux en contact et ceux non en contact, la mortalité pour cent <i>par tuberculose</i> , durant la première année de la vie, a été de	0,66
et la mortalité générale pour cent <i>par toutes causes de maladies</i> a été de	12,35

Les statistiques du Bureau d'Hygiène de la ville d'Alger (1) ont indiqué, de l'année 1924 à l'année 1929, une mortalité moyenne de 25,7 *pour cent*, chez les enfants de 0 à 1 an.

(1) Dr Gaston LEMAITRE, Les 18 ans du Bureau d'Hygiène de la ville d'Alger. Compte rendu des années 1926-1929.

SÉRO-DIAGNOSTIC DE LA LÈPRE PAR L'AGGLUTINO-SÉDIMENTATION DES GLOBULES DE MOUTON FORMOLÉS

par M. C. RUBINO (Montevideo).

(Travail du laboratoire du professeur Marchoux.)

Quelques expérimentateurs ont obtenu certains résultats contradictoires concernant la réaction d'agglutino-sédimentation des globules de mouton formolés dans la lèpre; nous attribuons ces résultats à l'utilisation incertaine de la première technique publiée, encore insuffisante. Toutefois, devant ces faits, nous avons résolu de reprendre, dans des conditions particulièrement sévères, un nouvel ensemble d'expériences comportant de nombreuses réactions de contrôle sur des cas d'affections les plus diverses, en particulier la syphilis, la tuberculose et différentes maladies du sang d'origine tropicale où la réaction semblait avoir donné des résultats plus inconstants.

Nous tenons à remercier ici de tout cœur M. le professeur Marchoux de l'hospitalité qu'il nous a offerte et des conseils qu'il a bien voulu nous donner.

Nous adressons aussi à M. le D^r H. Monier l'expression de notre vive gratitude pour l'intérêt qu'il a pris à nos expériences et pour la peine que lui a imposée la correction de notre texte français.

La première technique que nous avons publiée (1) comportait seulement l'utilisation d'une suspension de globules de mouton formolés, diluée au double du volume originel de sang et mélangées en parties égales avec les sérums à examiner. Peu après, nous avons décelé dans quelques sérums humains, non lépreux, un fort pouvoir agglutinant pour les suspensions de globules de mouton à l'état naturel (non formolés) et observé

(1) M. C. RUBINO. *Sociedad de Dermatologia de Montevideo*. Sezio de junio 8, 1926; *Revista medica del Uruguay*, 24, f. 9, 1926.

même dans quelques cas l'extension de ce pouvoir agglutinant aux globules formolés.

Dans un travail ultérieur, nous avons étudié les méthodes propres à différencier les sérums lépreux de ceux qui, n'appartenant pas à des lépreux, constituaient les exceptions précédentes et, de ce fait, agglutinaient et sédimentaient les globules formolés. Il fut ainsi établi que l'agglutino-sédimentation des globules formolés produite par les sérums lépreux était due à l'existence d'agglutinines agissant électivement sur les globules formolés, et qu'en dehors des cas de lèpre, les phénomènes d'agglutination des globules de mouton étaient dus à des hétéro-agglutinines non spécifiques parfois présentes dans des sérums divers, pathologiques ou normaux; elles agissent toujours plus fortement sur les globules naturels et elles n'atteignent les globules formolés que d'une manière moins intense (1).

Quelques mois après était publiée (2) notre technique plus perfectionnée; elle comportait l'utilisation de deux séries de trois tubes, en introduisant une série de trois tubes de globules naturels comme contrôle; elle comprenait enfin des doses décroissantes de sérum et des doses fixes de suspension globulaire.

En 1928, le professeur Marchoux et Caro (3) publièrent un travail confirmant ces faits fondamentaux et le caractère exclusif de leur présence dans la lèpre; mais ils trouvèrent un pourcentage inférieur à ceux précédemment notés par nous.

M. Peltier (4), avec la première technique, n'a trouvé que 22 p. 100 de cas positifs sur 18 sujets lépreux examinés, mais aucune réaction de contrôle positive.

Monacelli (5), sur 13 lépreux examinés, trouve 12 réactions positives et il accorde à la réaction une grande valeur pour le diagnostic des suspects.

(1) M. C. RUBINO. *Revista de la Sociedad argentina de Biología*. Anno 2, octobre 1926; *C. R. S. Biol.*, 96, f. 3, 1927.

(2) M. C. RUBINO. *Sociedad de Derm. y Sifil. de Montevideo*. Session Novembre 1926. Réaction sérologique dans la lèpre. *Revista medica del Uruguay*, nos 3-4, 1929.

(3) MARCHOUX et CARO. *Ces Annales*, 42, mai 1928.

(4) M. PELTIER, De la valeur technique de la méthode de Rubino pour la recherche de la sédimentation globulaire chez les lépreux. *Bull. Soc. Path. Ex.*, année 21, n° 10, 1928.

(5) MONACELLI. *Giorn. Ital. de Dermat.*, 69, 1928.

Markianos (1), sur 104 examens de sérums divers, n'a trouvé qu'un cas positif chez un sujet originaire d'un pays où sévissait la lèpre et dont on ne put contrôler le diagnostic.

Nous-même (2), dans un dernier travail, avons trouvé sur 38 sérums lépreux examinés, 32 positifs, 1 douteux et 5 négatifs, soit un pourcentage de 84 p. 100 de réactions positives; sur 2.000 réactions de contrôle faites, aucune ne fut trouvée positive.

Silva Araujo, au Brésil, et Borzone, en Argentine, ont présenté en octobre 1930, au Congrès médical du centenaire, à Montevideo, des travaux favorables.

Dernièrement, Pinto de Figueiredo (3), dans sa Thèse de Doctorat, a examiné 63 sérums lépreux et trouvé 74 p. 100 de résultats positifs dans les formes tubéreuses et mixtes, 26,6 p. 100 dans les formes nerveuses et latentes; sur 43 sérums provenant de divers malades (tuberculose pulmonaire, lupus tuberculeux, blastomycose, leishmaniose, épithéliomatose, granulomatose, fracture, grossesse, sujets traités par des sérums thérapeutiques), il n'a pas trouvé une réaction positive. Il en conclut que la *réaction de Rubino* est pathognomonique de la lèpre et qu'elle est un précieux auxiliaire pour le diagnostic.

Dans ce travail, après avoir décrit en détail la technique, nous verrons que la réaction s'est montrée plus sensible et *les résultats positifs seulement avec les sérums de lépreux*; nous étudierons enfin les caractères différentiels des agglutinines déterminées de façon plus précise par leur absorption relative en présence des antigènes globulaires naturels ou formolés.

I. — Technique de la réaction.

Voici, minutieusement exposés, tous les détails du montage de la réaction; si certains peuvent paraître trop méticuleux, ils permettront en tout cas de reproduire sans confusion possible le protocole exact qui a servi pour toutes nos expériences.

(1) MARKIANOS, Réaction de sédimentation des globules de mouton formolés dans la lèpre. *Bull. Soc. Path. Ex.*, n° 5, 1929.

(2) M. C. RUBINO. *Revista medica del Uruguay*, nos 3-4, 1929.

(3) A. P. DE FIGUEIREDO, O diagnostico serologico da lepra pela reacao de Rubino. Thèse de Doctorat, Rio de Janeiro, 1931.

A. — PRÉPARATION DES GLOBULES.

On défibrine au moins 20 cent. cubes de sang de mouton que l'on répartit dans deux récipients stériles. Une partie est portée à la glacière où elle sera conservée à une température optima oscillant entre $+ 5^{\circ}$ et $+ 9^{\circ}$ jusqu'à son utilisation pour la préparation de la suspension de globules naturels. Le délai d'utilisation du sang de mouton ainsi conservé à la glacière ne doit pas dépasser trois jours.

La préparation des globules formolés se pratique de la façon suivante : après avoir fixé avec soin le volume du sang défibriné, on centrifuge, on retire le sérum, et on lave quatre fois à l'eau physiologique à 8,5 p. 100. Après le dernier lavage, on ajoute une quantité d'eau physiologique telle que le volume primitif se trouve doublé. A cette dilution globulaire, on ajoute 10 p. 100 de son volume de formol (solution d'aldéhyde formique à 40 p. 100); on mélange *de suite intimement*, puis on laisse dix-huit à vingt-quatre heures à la température ordinaire. Dans ces conditions, les globules ainsi formolés sont fixés de telle sorte qu'ils ne sont plus hémolysables par l'eau distillée, ou même par un sérum hémolytique spécifique, et qu'ils donnent des suspensions très homogènes. Ils restent utilisables au moins pendant une dizaine de jours.

La préparation des suspensions globulaires utilisées pour chaque réaction doit être faite extemporanément de la façon suivante :

a) *Globules naturels* : Après quatre lavages successifs, on fait dans de l'eau physiologique à 8,5 p. 1.000 une dilution au double du volume primitif du sang que l'on a conservé à la glacière depuis son prélèvement.

b) *Globules formolés* : Pour bien enlever l'excès de formol, on lave à nouveau les globules à quatre reprises, en prenant soin de bien désagréger à la baguette de verre le culot pâteux qui se forme après chaque centrifugation, de façon à obtenir par agitation une suspension parfaitement homogène.

Lorsque durant la formolation une hémolyse légère s'est produite, les débris globulaires ainsi formés surnagent le culot. En règle générale, on agitera très légèrement les tubes avant de décanter le liquide surnageant de façon à entraîner avec ce liquide les résidus globulaires s'il y en a. On réajus-

tera alors la dilution en eau physiologique à un volume égal à celui qui précédait ces derniers lavages.

Il importe durant tous les lavages de ne pas prélever de globules dans les pipettages successifs pour éviter de modifier la concentration globulaire.

La concentration des suspensions globulaires est d'ailleurs un des facteurs les plus importants de la bonne marche de la réaction. Nous employons la dilution à parties égales pour les moutons de laboratoire dont les fréquentes saignées abaissent le taux globulaire ; mais pour utiliser le sang des moutons d'abattoir, il convient le plus souvent de diluer une partie de sang normal dans deux parties d'eau physiologique. En tous les cas, ces dilutions doivent correspondre à un taux voisin de 3.500.000 à 4.000.000 de globules par millimètre cube.

Avant chaque répartition, il importe de plus de rendre homogènes les suspensions par agitation et pipettages successifs.

B. — PRÉPARATION DES SÉRUMS A EXAMINER.

Un prélèvement de 10 à 15 cent. cubes de sang veineux suffit pour la réaction complète. Le sérum recueilli doit être parfaitement limpide, aussi évitera-t-on les manœuvres brutales destinées à décoller le caillot et mettant en suspension des globules ; quand cet accident se produit, on n'utilise les sérums qu'après les avoir centrifugés.

Dès que la rétraction du caillot paraît suffisante, on prélève les sérums le plus tôt possible ; puis, on les inactive par chauffage une demi-heure à 52-53° pour éviter l'action des hémoly-sines souvent présentes dans les sérums et susceptibles de troubler la réaction de contrôle des globules naturels.

Il y a toujours intérêt à se servir des sérums dans le plus bref délai ; en tous les cas, un maximum de dix jours doit être fixé pour l'utilisation de la majorité des sérums conservés en tubes scellés.

C. — DISTRIBUTION DE LA RÉACTION.

La réaction se fait en six tubes. On utilise des tubes à hémolyse identiques, de 9 à 10 millimètres de diamètre intérieur. Ces tubes seront au préalable soigneusement lavés, rincés à l'acide,

bien séchés, ou mieux encore stérilisés au four à flamber.

On répartit en premier lieu les sérums; puis, on égalise les volumes avec de l'eau physiologique que l'on mélange soigneusement par agitation. On ajoute *seulement alors* les suspensions globulaires.

Dès que les globules sont répartis, on agite longuement le portoir de façon à obtenir dans tous les tubes des suspensions absolument homogènes qui seront alors portées à l'étuve à 37°.

Lorsque l'on a de très nombreux sérums à examiner, il convient de répartir les suspensions globulaires, portoir par portoir, de façon à éviter qu'un laps de temps trop considérable ne sépare les différents stades de la réaction.

	1	2	3	4	5	6
	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube
Sérum.	0,50	0,25	0,1	0,50	0,25	0,1
Eau physiologique.	0,30	0,55	0,7	0,30	0,55	0,70
Suspension globules formolés. .	0,20	0,20	0,20			
Suspension globules naturels. .				0,20	0,20	0,20

A ce schéma qui suffit d'une manière générale, on peut dans quelques cas douteux ajouter un élément d'appréciation en utilisant un premier tube où l'on distribuera 0 c. c. 75 de sérum, 0 c. c. 05 d'eau physiologique, et 0 c. c. 20 de suspension globulaire, et où la lecture des réactions faibles apparaîtra plus nettement. Un tube de contrôle de globules naturels sera établi sur le même schéma. Si nous ne comprenons pas toujours ces deux premiers tubes dans notre schéma standard, c'est pour éviter les résultats douteux dus aux hétéro-agglutinines qui apparaissent plus fréquemment à cette concentration, et en particulier dans les affections exotiques. Nous exposerons d'ailleurs plus loin un procédé d'absorption préalable des hétéro-agglutinines qui permet dans tous les cas de se débarrasser de ces éléments perturbateurs et de lire la réaction.

D. — LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS.

La lecture doit se faire dans la première heure qui suit la mise à l'étuve. Il est utile toutefois de suivre la marche de la

réaction de façon à remarquer les réactions fortement positives qui apparaissent dès le premier quart d'heure. Nous conseillons donc de faire une première lecture quinze minutes après la mise à l'étuve, une deuxième à la fin de la première demi-heure, et la dernière au bout d'une heure. Toute lecture qui sera faite passé ce délai ne peut être considérée comme certaine.

Une réaction positive se caractérise par un éclaircissement de

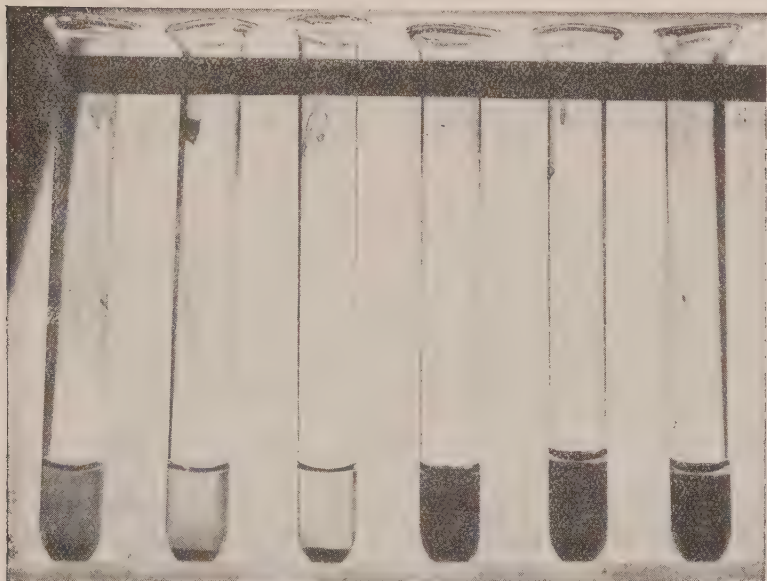


FIG. 1. — Réaction positive avec un sérum lépreux libre d'hétéro-agglutinines.

Les trois tubes de gauche correspondent aux globules formolés ; le tube 1 représente une agglutino-sédimentation avec culot très net et liquide surnageant un peu opaque ; les tubes 2 et 3 agglutino-sédimentation complète. Les trois derniers tubes sont les témoins dans lesquels les globules formolés ont été remplacés par des globules naturels ; en 5 et 6 on aperçoit un commencement de précipitation des globules par la pesanteur.

la masse, uniforme, progressif et d'autant plus rapide que la réaction est plus forte, en même temps que se ramasse dans le fond du tube un important culot contrastant très nettement avec le reste du milieu plus ou moins éclairci.

Deux phénomènes principaux peuvent donner lieu à une mauvaise interprétation des résultats ; ces causes d'erreur,

d'ailleurs, disparaissent rapidement dès que l'on s'accoutume à la lecture de la réaction. Nous allons les envisager ici :

Tout d'abord, il importe de ne pas confondre le phénomène de la sédimentation spontanée des globules formolés ou naturels qui se produit normalement dans toutes les suspensions globulaires, qui est dû à la pesanteur, et qui est d'autant plus marqué que la concentration globulaire est plus faible. Ce phénomène apparaît dans les réactions négatives au cours de la première heure, mais il ne laisse apercevoir au-dessus d'une masse uniformément opaque qu'une bande de sérum clair.

La pesanteur entraîne aussi, *en une heure*, la formation d'un petit culot, uniforme dans tous les tubes, et que l'on peut mettre en évidence dans certaines conditions d'éclairage, mais qui ne peut être confondu avec le culot d'une réaction positive.

L'ensemble du phénomène, en définitive, ne correspond en rien à l'impression visuelle que l'on a eue, suivant l'évolution d'une réaction positive.

D'autre part, une agglutination accélérée des globules naturels peut apparaître dans d'autres affections ou même dans quelques cas de lèpre. Le fait dû aux hétéro-agglutinines se présente sous deux aspects.

Dans certains cas, les plus habituels, l'agglutination se produit seulement dans les globules naturels, et la confusion paraît impossible.

Mais dans d'autres cas plus rares, l'agglutino-sédimentation se produit dans tous les tubes. Dans ces cas seulement, il y a lieu d'observer les taux d'agglutination respectifs des globules formolés et naturels et, en cas de doute, on doit recommencer la réaction après avoir réalisé l'absorption des hétéro-agglutinines dans les conditions que nous déterminerons plus loin.

En résumé, *la réaction est positive lorsque l'agglutino-sédimentation qui caractérise le phénomène se produit seulement dans les globules formolés ou quand elle y est nettement plus intense que dans les globules naturels.*

II. — De l'influence de certains facteurs.

A. — IMPORTANCE DES SUSPENSIONS GLOBULAIRES.

a) CHOIX DE L'ESPÈCE. — Dès nos premiers travaux sur la question, nous avons observé que les globules des différentes espèces animales ne se comportaient pas de la même manière à l'égard de la formolation et de la réaction.

Les globules de l'homme, du cobaye et du lapin sont mal fixés par le formol; ceux du mouton, de la chèvre, du bœuf, du lama et du pigeon se fixent bien.

Certains globules humains se montrent très sensibles et spécifiques; avec d'autres, les résultats sont moins heureux, particulièrement en ce qui concerne la spécificité de la réaction. Ce fait répond sûrement à la présence des iso-agglutinines qui dominent les rapports des groupements sanguins, et, pour avoir des globules toujours utilisables pour la réaction, il faudrait s'adresser exclusivement aux globules du groupement I (de Jansky groupe IV de Moss) qui ne contiennent pas d'iso-agglutinogène.

Les globules du lama donnent d'assez bons résultats, mais vis-à-vis d'eux de nombreux sérums humains renferment des hétéro-agglutinines.

Les globules du bœuf sont peu sensibles, encore moins ceux de la chèvre avec lesquels aucune réaction positive n'a pu être obtenue; pour expliquer cette exception, nous pensons à l'influence que peut avoir la petitesse des globules rouges de cette espèce sur la stabilité de leurs suspensions.

Quant à ceux du cobaye, si, après formolation, ils sont agglutinés *seulement* par les sérums lépreux, il n'en est pas de même pour les globules à l'état naturel qui sont agglutinés par le plus grand nombre des sérums humains.

Les globules qui conviennent le mieux à la réaction sont les globules de mouton.

b) CHOIX DE L'INDIVIDU. — Le choix de chaque animal présente aussi une grande importance.

Tous les moutons ne fournissent pas du sang dont les globules se comportent d'une façon identique en face de nos différentes opérations. D'une part, la richesse globulaire influe sur la sensibilité de la réaction; d'autre part, la constitution biologique intime des globules peut, elle aussi, influencer sur la sensibilité de la réaction; ce phénomène se rapproche d'ailleurs de ce qui se passe avec tous les antigènes dans les réactions du même ordre, par exemple l'importance des souches différentes dans les agglutinations microbiennes.

De l'ensemble de ces faits il résulte :

1° Pour éviter l'action des facteurs individuels, on doit toujours utiliser pour chaque réaction des suspensions globulaires, naturelles et formolées, de même origine;

2° Pour utiliser le sang des animaux d'abattoir, on doit préférer le mélange du sang de plusieurs animaux;

3° Dans les laboratoires où l'on dispose de plusieurs moutons, il est préférable de sélectionner au préalable les animaux dont les globules se comportent le mieux au point de vue de la sensibilité de la réaction.

B. — IMPORTANCE DU FORMOL ET DU DEGRÉ DE FORMULATION.

Les sérums lépreux mis en présence de globules naturels de mouton et de quantités variables de formol ne donnent pas la réaction. La production de celle-ci est strictement liée à l'action préalable du formol employé en solution d'autant plus concentrée ou maintenu en présence des globules de mouton d'autant plus longtemps que ceux-ci sont plus nombreux. Il est curieux de noter que de petites quantités d'aldéhyde formique libre, comme celles qui peuvent persister après des lavages insuffisants, peuvent gêner la réaction, action empêchante qui est bien liée à la fonction aldéhyde puisqu'on la voit disparaître si on la neutralise par l'ammoniaque par exemple.

Plus le degré de formulation est intense, plus la réaction est sensible; il convient de se tenir seulement dans les limites de concentration et de durée qui permettent, après la formulation, d'obtenir des suspensions globulaires homogènes.

Les proportions que nous avons adoptées nous ont paru

optima; elles permettent d'utiliser les globules jusqu'au dixième jour après leur formolation.

C. — ACTION DE LA TEMPÉRATURE.

a) SUR LES SÉRUMS. — D'après les expériences de Marchoux et Caro, un chauffage à 56° pendant une heure débarrasserait les sérums de leurs propriétés particulières nécessaires à la réaction. Suivant des expériences antérieures, nous savons qu'un chauffage à 53°-56° pendant trente minutes seulement n'altère pas visiblement la réaction. Mais depuis que, par le travail de Hohn (1), Kadisch (2) et Rubino (3), on sait qu'un chauffage à 52° pendant trente minutes suffit pour enlever aux *sérums humains* leur activité alexique, nous avons adopté maintenant cette température pour l'inactivation des sérums en expérience.

b) SUR LES GLOBULES FORMOLÉS. — La suspension globulaire traitée par le formol acquiert la propriété remarquable de rester homogène et indifférente à la chaleur, que celle-ci agisse en présence du formol ou seulement sur les globules formolés et lavés, ou même qu'elle soit poussée à 100°.

Un chauffage de trente minutes à 66-70° en particulier, en présence du formol, rend les globules encore plus sensibles à la réaction, ce qui se manifeste par l'accélération de la sédimentation et une plus forte intensité dans les réactions faibles.

c) SUR LA MARCHE DE LA RÉACTION. — Il semble bien que la température de 37° soit la plus favorable. La réaction marche à des températures plus basses, mais à 55° elle s'arrête pour reprendre quand on ramène les tubes d'expérience à 37°.

Nous avons démontré ailleurs qu'il reste de l'agglutinine libre quand on a mis les globules formolés en présence de sérum, soit à 9° soit à 56°.

(1) HOHN. *Munch. Med. Wochenschrift*, 1929.

(2) KADISCH. *Klin. Wochenschrift*, n° 45, 1929.

(3) M. C. RUBINO, Ueber die Antihämolytischen Eigenschaften de Menschen-serum. *Cent. f. Bakt.*, 120, 1931.

D. — INFLUENCE DES PROPORTIONS RELATIVES
DES ÉLÉMENTS DE LA RÉACTION.

L'agglutino-sédimentation des globules formolés de mouton produite par les sérums lépreux est strictement conditionnée d'une part par la proportion des agglutinines dans les sérums, d'autre part par la richesse en globules des suspensions en expérience.

Dans une expérience où à des quantités fixes de sérum, on ajoute des quantités décroissantes de globules, la réaction augmente de sensibilité à mesure que la quantité des globules diminue. Dans une expérience où à des quantités fixes de globules, on ajoute des doses croissantes de sérum, la réaction augmente de sensibilité à mesure que les doses de sérum augmentent.

Pourtant la combinaison optima mesurée par la précocité de l'apparition du phénomène ne correspond ni à la dose la plus petite de la première expérience, ni à la dose la plus forte de la deuxième expérience. Il y a donc toujours pour chaque sérum et chaque suspension globulaire un point de sensibilité critique qui correspond à une proportion fixe entre les quantités d'agglutinines et de globules mis en présence. Un excès d'agglutinines, de même qu'un excès de globules, présente un certain effet empêchant sur la bonne marche de la réaction.

Il ressort donc clairement que ce phénomène suit les lois qui régissent les réactions biologiques des antigènes et des anticorps.

Il n'est pas douteux que la première phase, l'absorption des agglutinines par les globules, s'accomplit toujours rapidement. Quant à la deuxième phase, celle de l'agglutination, elle détermine la chute plus ou moins rapide de la suspension globulaire et c'est elle qui se trouve gênée par l'excès d'agglutinines ou de globules.

De tous ces faits il résulte :

1° *Que le phénomène de l'agglutino-sédimentation des globules formolés par les sérums de lépreux ne peut être défini comme une simple sédimentation globulaire accélérée;*

2° Que la réussite de la réaction, malgré son apparente simplicité, demande des conditions précises et en particulier le réglage des suspensions globulaires.

III. — Étude de quelques questions concernant la nature de la réaction.

Nous compléterons dans l'exposé suivant les données qui ont déjà été observées par nous (1).

A. — PROPRIÉTÉS ANTIGÉNIQUES DES GLOBULES FORMOLÉS.

Étant données les modifications profondes causées par le formol sur le stroma globulaire, indépendamment d'autres transformations comme la formation de méthémoglobine, nous avons pensé que les qualités antigéniques globulaires doivent être, elles aussi, influencées par la formolation. Et nous avons été ainsi amené à étudier les variations apportées par la formolation aux capacités relatives de production et d'absorption des immun-agglutinines et des immun-hémolysines.

En préparant un certain nombre de lapins dans les mêmes conditions d'origine, de doses et de temps, par injections sous-cutanées intraveineuses ou intrapéritonéales de globules formolés et lavés ou de globules naturels de mouton, les faits suivants ont déjà été observés (2).

Ils concernent :

a) *La production des agglutinines.*

Pouvoir agglutinant moyen trouvé sur 6 animaux préparés par les globules naturels : 1/232.

Pouvoir agglutinant moyen trouvé sur 7 animaux préparés par les globules formolés : 1/95.

Les mesures de ces pouvoirs agglutinants ont été faites dans des conditions identiques en présence de globules naturels de mouton.

b) *L'agglutinabilité.*

L'agglutination des globules formolés aussi bien par les

(1) M. C. RUBINO. *Revista medica del Uruguay*, nos 3-4, 1929.

(2) M. C. RUBINO, Untersuchungen zur Verwendung formol fixiertes Hammel blutkörperchen in der serodiagnostik. *Cent. f. Bakt.*, 120, 1931.

sérums d'animaux préparés avec les globules formolés que par les sérums d'animaux préparés avec les globules naturels, *a presque toujours été obtenue à des taux inférieurs, rarement égaux, en aucun cas supérieurs aux taux d'agglutination des globules naturels par les mêmes sérums.*

c) *Production des hémolysines.*

Sur ce point les globules formolés ou naturels ont présenté *des capacités égales*. En effet, le pouvoir hémolytique a atteint $1/960$ en moyenne sur 5 animaux préparés avec des globules naturels et $1/970$ chez 6 animaux préparés avec des globules formolés.

d) *La capacité d'absorption* des hémolysines s'est révélée au contraire très différente, puisque avec les globules formolés elle apparaît *trois à quatre fois moins considérable*.

Somme toute, il est intéressant de constater que la capacité de production d'agglutinines et l'agglutinabilité sont les deux propriétés qui sont les plus modifiées par la formulation. Comme nous retrouverons à l'égard des hétéro-agglutinines des sérums humains des modifications analogues, l'observation de ces phénomènes nous permettra, en les caractérisant, de différencier ainsi facilement les hétéro-agglutinines non spécifiques des agglutinines spécifiques des sérums de lépreux.

B. — LES AGGLUTININES SPÉCIFIQUES DES SÉRUMS LÉPREUX ET LES HÉTÉRO-AGGLUTININES DE DIVERS SÉRUMS.

Dès l'origine de nos travaux sur la séro-réaction de la lèpre, nous avons remarqué que l'agglutino-sédimentation des globules formolés se produisait avec quelques sérums non lépreux. Mais ce phénomène était *toujours accompagné d'une semblable agglutino-sédimentation des globules naturels et d'une manière plus intense.*§

La différence entre ce dernier phénomène et celui qui caractérise une réaction positive est suffisamment nette pour rendre évidente dans les sérums en question la présence d'un autre type d'anticorps; ce sont des hétéro-agglutinines.

Deicher (1), en 1926, a mis en évidence dès le septième ou huitième jour, chez les sujets ayant reçu des injections de

(1) H. DEICHER, Ueber die Erzeugung heteroespezifischer Hamagglutinin durch injektion Art fremden serum. *Zeitschrift für hygiene u. Inf. Krank.*, 11 septembre 1926.

sérum, des hétéro-agglutinines très actives sur les globules rouges de certaines espèces (mouton et cheval en particulier) et dont la quantité semble atteindre un maximum vers le douzième ou treizième jour.

Ces hétéro-agglutinines persistaient longtemps et la présence a pu en être rétrospectivement décelée chez des malades ayant reçu des injections antérieures de sérum.

Elles existent aussi en dehors de tous les cas précédents, mais bien qu'elles ne soient caractéristiques d'aucune affection particulière, elles sont plus fréquentes dans certaines maladies. Dans nos dernières expériences nous les avons rencontrées assez souvent dans les affections exotiques.

C. — LA COEXISTENCE DES AGGLUTININES SPÉCIFIQUES
ET DES HÉTÉRO-AGGLUTININES
DANS LES SÉRUMS LÉPREUX ; LEUR ABSORPTION
PAR LES GLOBULES FORMOLÉS OU NATURELS.

Ces hétéro-agglutinines que nous venons de voir dans divers sérums peuvent parfois se rencontrer dans les sérums lépreux à côté des agglutinines spécifiques.

Si elles sont peu actives, ce qui est le cas général, elles ne troubleront pas la lecture de la réaction ou l'intensité d'agglutination des tubes de globules formolés sera beaucoup plus nette.

Dans certains cas plus rares, *et plus particulièrement remarqués chez les lépreux présentant une affection tropicale associée*, une forte action des hétéro-agglutinines peut gêner la lecture de la réaction au point de la rendre invisible.

Nous allons voir maintenant comment il est possible dans ces cas de se débarrasser des co-agglutinines non spécifiques et par conséquent d'utiliser la réaction en toutes circonstances.

Marchoux, Caro et nous, avons déjà prouvé que la réaction est due à une substance spécifique existant dans les sérums lépreux et à l'absorption de cette substance par les globules formolés.

Les expériences suivantes démontrent que les globules formolés ont *un pouvoir d'absorption électif pour cette substance qui ne peut pas se fixer sur les globules naturels dans les conditions de nos expériences*.

Nous verrons ainsi que les hétéro-agglutinines se comportent d'une façon très différente des agglutinines lépreuses. En effet,

d'une part, elles sont aussi bien absorbées par les globules naturels que par les globules formolés, d'autre part, la température optima pour leur absorption oscille autour de 0°, alors que c'est la température de 37° qui s'est montrée la plus favorable pour l'absorption des agglutinines spécifiques des sérums lépreux.

EXPÉRIENCE I. — *Absorption élective des agglutinines spécifiques par les globules formolés.*

a) Conditions d'expérience :

1° Sérums lépreux inactivés à 52° pendant trente minutes.

Sérum n° 217 : faiblement positif.

Sérum n° 224 : fortement positif.

2° Suspensions globulaires :

a) Suspension de globules naturels de mouton lavés comme pour le Wassermann, puis dilués au double du volume originel du sang avec la solution physiologique.

b) Suspension de globules de mouton formolés suivant la méthode indiquée au chapitre de la technique, lavés et dilués au double du volume originel du sang avec la solution physiologique.

b) Schéma d'absorption :

	TUBE 1 (cent. cubes)	TUBE 2 (cent. cubes)
Sérum	1	1
Suspension globules formolés	1	
Suspension globules naturels		1

On mélange bien, puis on porte à l'étuve à 37° pendant une heure. Il est nécessaire d'agiter les suspensions deux ou trois fois pendant leur séjour à l'étuve.

A la sortie de l'étuve on centrifuge; ces centrifugations doivent être simultanées pour chaque sérum afin d'égaliser les temps d'absorption; après centrifugation, on prélève les sérums surnageant qui vont servir au montage de la réaction suivante :

c) Schéma de la réaction n° 1.

Tubes.	SÉRUMS LÉPREUX			MÊMES SÉRUMS traités par globules formolés			MÊMES SÉRUMS traités par globules naturels		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	<small>c. c.</small>	<small>c. c.</small>	<small>c. c.</small>	<small>c. c.</small>	<small>c. c.</small>	<small>c. c.</small>	<small>c. c.</small>	<small>c. c.</small>	<small>c. c.</small>
Sér. dilué de 1/2	0,75	0,5	0,25	0,75	0,5	0,25	0,75	0,50	0,25
Eau physiol.		0,25	0,50		0,25	0,50		0,25	0,50
Susp. gl. formolés.	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Lecture des résultats après une heure d'étuve :									
Sérum 217 .	++	++	—	—	—	—	++	++	—
Sérum 224 .	++++	++++	++	—	—	—	++++	++++	++

Nous voyons d'après cette expérience que les agglutinines spécifiques ont été absorbées par les globules formolés et que les globules naturels les ont laissées parfaitement intactes.

EXPÉRIENCE II. — *Absorption indifférente des hétéro-agglutinines par les globules naturels ou formolés.*

Les conditions de l'expérience, la méthode d'absorption étaient exactement les mêmes que pour la première expérience; mais nous opérons sur le sérum n° 69 présentant des hétéro-agglutinines très actives et agissant sur les globules naturels et formolés.

L'absorption terminée, nous montons la réaction suivante :

Schéma de la réaction n° 2.

Tubes.	SÉRUMS lépreux		SÉRUMS préalablement traités par globules formolés		SÉRUMS préalablement traités par globules naturels	
	1	2	3	4	5	6
	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube
Sérum dilué de 1/2. .	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Susp. glob. formolés .	0,25		0,25		0,25	
Susp. glob. naturels .		0,25		0,25		0,25
Lecture du résultat après une heure d'étuve à 37°.	+++	+++	—	—	—	—

Que le sérum ait été traité par les globules formolés (tubes 3 et 4) ou par les globules naturels (tubes 5 et 6) il a, dans les deux cas, perdu tout pouvoir agglutinant. Il ne s'agit donc pas ici de substance spécifique, mais d'hétéro-agglutinine.

EXPÉRIENCE III. — *Les hétéro-agglutinines d'un sérum fortement agglutinant peuvent ne pas être totalement fixées à 37°.*

Un sérum, n° 280, non lépreux, agglutine fortement, mais presque seulement les globules de mouton naturels. Nous profitâmes de cette circonstance pour étudier l'absorption relative de ces hétéro-agglutinines par les deux sortes de globules de mouton, formolés et naturels. Nous nous sommes maintenus dans des conditions de proportions, de temps et de température identiques à celles des expériences I et II.

Voir le résultat au tableau de la page suivante.

Cette expérience prouve : 1° que le sérum 280 agglutine presque exclusivement les globules naturels et n'exerce sur les globules formolés qu'une action insignifiante; 2° qu'après une heure de contact à 37° avec des globules naturels ou formolés,

Tubes	TITRE AGGLUTINANT du sérum				TITRE AGGLUTINANT du même sérum après le traitement par			
					a) g'obules formolés		b) globules naturels	
	1	2	3	4	5	6	7	8
Sérum pur.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.
Sérum dilué de 1/2	0,5	0,25	0,5	0,25	0,75	0,5	0,75	0,5
Solution physiologique	0,25	0,5	0,25	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25
Suspension globules formolés	0,25	0,25			0,25	0,25	0,25	0,25
Suspension globules naturels			0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Lecture des résultats après une heure d'étuve à 37°.	+		++++	++++	+++	++	+++	++

on n'observe qu'une absorption des agglutinines partielle et égale pour les uns et les autres.

Reste à voir comment les choses se passent à une autre température.

EXPÉRIENCE IV. — *Influence de la température sur l'absorption des hétéro-agglutinines.*

Toujours dans les mêmes conditions que pour les expériences I et II nous réalisons l'absorption des agglutinines à deux températures très différentes. Nous utilisons le sérum 280 qui est très fortement hétéro-agglutinant et nous opérons de la façon suivante :

Le *Tube A* (sérum : 0 c. c. 6 + suspension globules naturels : 0 c. c. 6) est placé une heure à l'étuve à 37°.

Le *Tube B* (sérum : 0 c. c. 6 + suspension globules naturels : 0 c. c. 6) est placé une heure à la glacière à 0°.

Pendant l'heure d'absorption les deux tubes sont agités 3 fois.

Avec les sérums ainsi traités nous montons la réaction suivante :

Schéma de la réaction n° 4.

Tubes.	SÉRUMS TRAITÉS par globules naturels à 37°		SÉRUMS TRAITÉS par globules naturels à 0°	
	1	2	3	4
Sérum dilué de 1/2	cent. cub. 0,6	cent. cube 0,3	cent. cube 0,6	cent. cube 0,3
Solution physiologique	0,15	0,45	0,15	0,45
Suspension globules naturels.	0,25	0,25	0,25	0,25
Lecture des résultats après une heure d'étuve à 37°	+++	++	—	—

Nous voyons que les hétéro-agglutinines n'ont été totalement absorbées que dans les tubes contenant du sérum traité à 0°, ce qui indique que cette température est plus favorable.

EXPÉRIENCE V. — *Coexistence dans le même sérum des agglutinines lépreuses et des hétéro-agglutinines.*

Nous utilisons le sérum n° 250 qui donne une forte agglutino-sédimentation des globules formolés et qui agglutine aussi nettement, mais avec moins d'intensité, les globules naturels : c'est une réaction positive avec présence simultanée d'hétéro-agglutinines.

L'absorption étant réalisée exactement dans les conditions de la première expérience, on monte la réaction suivante :

Schéma de la réaction n° 5.

Tubes.	SÉRUMS lépreux		SÉRUMS TRAITÉS par globules formolés		SÉRUMS TRAITÉS par globules naturels	
	1	2	3	4	5	6
	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube	cent. cube
Sérum dilué de 1/2 . .	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Susp. glob. formolés.	0,25		0,25		0,25	
Susp. glob. naturels .		0,25		0,25		0,25
Lecture des résultats après une heure d'étuve à 37°.	++++	++++	—	—	++++	—

L'agglutination persistant dans le seul tube 5 à l'exclusion des tubes 3, 4 et 6 montre bien :

1° L'absorption indifférente des agglutinines spécifiques et des hétéro-agglutinines par les globules formolés (sérum épuisés);

2° La persistance des agglutinines spécifiques de la lèpre après absorption des hétéro-agglutinines par les globules naturels.

Nous avons réalisé toutes nos expériences dans les proportions exactes que nous venons d'indiquer. Ces proportions se sont montrées convenables, mais il est possible que pour d'autres sérums plus riches en agglutinines il soit nécessaire de les modifier pour obtenir des absorptions totales.

D. LE PHÉNOMÈNE D'AGGLUTINO-SÉDIMENTATION
PROPRE AU SÉRUM LÉPREUX
EST CORRÉLATIF DU POUVOIR AGGLUTINANT OU FLOCCULANT
DE CES SÉRUMS
PAR DIVERSES AUTRES SUSPENSIONS.

Nous avons observé dans les sérums lépreux à réaction positive un pouvoir agglutinant ou flocculant pour certains extraits d'organes ou certaines suspensions microbiennes. Les extraits de rate et de foie de cobaye, les extraits de globules de mouton et de cobaye ont été plus particulièrement sensibles.

Nous avons réalisé la préparation de ces extraits de la façon suivante : on place à 55° le mélange, organe frais ou culot de centrifugation globulaire, 1 p. 100 dans alcool à 95°, 10 cent. cubes. Au bout de quelques heures l'extraction est terminée; on évapore l'alcool et on reprend le résidu par l'eau physiologique.

Les suspensions de *Proteus* X19, qu'elles soient vivantes ou formolées et lavées, se sont montrées elles aussi particulièrement sensibles à l'agglutination par les sérums lépreux.

Voici quel a été le schéma général de ces réactions :

	T. 1	T. 2
Suspension de l'antigène choisi, en centimètres cubes.	1	1
Sérum en examen, en centimètres cubes.	0,1	0,2

Résultats des expériences ainsi faites.

16 sérums lépreux examinés.

Sur 11 sérums positifs aux globules formolés, 10 agglutinent très fortement les diverses suspensions, 1 faiblement.

5 sérums qui sont négatifs aux globules formolés ne donnent aucune flocculation ou agglutination des diverses suspensions essayées.

E. LES GLOBULES FORMOLÉS ÉPUISENT LES SUBSTANCES ACTIVES
DES SÉRUMS LÉPREUX ET LA RÉACTION NE SE PRODUIT
QU'EN PRÉSENCE DES ÉLECTROLYTES.

Nous avons déjà vu en détail que les globules formolés épuisent les agglutinines spécifiques des sérums lépreux qui se

fixent sur eux d'une manière élective. Après cette action les sérums ainsi traités perdent la capacité de produire la réaction (exp. I de ce chapitre). Au contraire les globules sédimentés acquièrent, eux, la propriété de reproduire la réaction, *mais seulement en présence d'électrolytes*.

En effet, après 3 ou 4 lavages à l'eau distillée, les globules d'un culot de centrifugation de réaction positive, mis en suspension dans plusieurs tubes contenant les uns de l'eau physiologique, les autres de l'eau distillée, reproduisirent le phénomène d'agglutino-sédimentation dans les seuls tubes d'eau physiologique.

F. LA SÉDIMENTATION GLOBULAIRE DES RÉACTIONS POSITIVES
EST ESSENTIELLEMENT DIFFÉRENTE DE LA SÉDIMENTATION SPONTANÉE.

Si nous disposons dans 3 éprouvettes de petit diamètre, ou mieux dans des sédimentimètres, les mélanges suivants à parties égales,

1. Sérum lépreux positif . . + globules formolés et lavés.
2. Sérum lépreux épuisé . . + globules formolés et lavés.
3. Sérum normal + globules formolés et lavés.

après quelques heures, la sédimentation sera complète et nous pourrons voir que le culot de sédimentation le plus volumineux se trouve nettement dans le premier tube, c'est-à-dire celui du sérum lépreux non épuisé.

Enfin, si nous disposons les 3 combinaisons précédentes dans trois tubes à hémolyse ordinaire, nous voyons que par agitation modérée il est toujours facile d'émulsionner à nouveau le culot globulaire d'une réaction positive, alors que cette opération est beaucoup plus difficile pour les autres tubes.

G. NATURE DE LA RÉACTION.

De l'ensemble des faits précédents il ressort, croyons-nous, que l'agglutino-sédimentation des globules formolés dans la lèpre est une réaction du même genre que les agglutinations microbiennes ou les séroflocculations. Elle est régie par les mêmes lois, répond aux mêmes exigences et nécessite la pré-

sence d'un élément spécifique produisant en premier lieu l'accolement des particules, suivi d'une chute plus ou moins rapide des globules, entraînant la clarification plus ou moins complète des suspensions. C'est à la faculté d'agglutination du sérum à l'égard des globules formolés qu'est due la rapidité de la sédimentation comparée aux sédimentations spontanées.

IV. — Résultats obtenus avec quelques sérums lépreux ou non lépreux.

Voici les résultats que nous avons obtenus en examinant, avec la technique décrite plus haut, des sérums de différentes origines.

Nous avons fait la réaction sur 340 sérums parmi lesquels 36 appartenaient à des sujets porteurs cliniquement de lèpre, et 304 de diverses autres affections.

A. — EXAMEN DES SÉRUMS DES SUJETS CLINIQUEMENT LÉPREUX.

Nous devons à l'obligeance de M. le professeur Gougerot et de MM. Delord de Valbonne, Markianos et Blanc, d'Athènes, d'avoir pu étudier un certain nombre de sérums lépreux (1), et nous tenons à les en remercier ici.

De ces sérums :

Ont été recueillis au laboratoire du professeur Marchoux	4
Sont venus de la clinique du professeur Gougerot	4
Proviennent du sanatorium de Valbonne (Gard)	10
Ont été envoyés par le docteur Markianos, d'Athènes	7
Ont été expédiés par le docteur Blanc, directeur de l'Institut Pasteur d'Athènes	11

Sur 18 cas de lèpre tubéreuse : 16 cas positifs et 2 douteux.

Sur 10 cas de lèpre mixte : 8 cas positifs et 2 négatifs.

Sur 8 cas de lèpre nerveuse : 3 cas positifs et 5 négatifs.

Au total, sur 36 cas de lèpre : 27 cas positifs, 2 douteux et 7 négatifs.

Il convient de remarquer que les deux réactions comptées comme douteuses dans les cas de lèpre tubéreuse portaient sur

(1) M. C. RUBINO. *Bull. Acad. Médecine*, n° 21, séance du 24 juin 1931.

des sérums où les hétéro-agglutinines ne nous permirent pas la lecture et dont nous n'avons pu nous procurer de nouvel échantillon pour réaliser l'absorption préalable des hétéro-agglutinines.

B. — EXAMEN DES SÉRUMS DE CONTROLE D'ORIGINES DIVERSES.

Sur 304 sérums examinés, nous avons :

33 sérums pris sur des malades venus à la consultation du professeur Marchoux et chez lesquels les diagnostics suivants ont été faits :

Paludisme	26 fois.
Filariose	1 —
Maladie du sommeil	3 —
Leucémie myéloïde	1 —
Gastro-entérite	1 —

Chez ces malades, paludisme, maladie du sommeil, filariose, sont parfois associés ; dans un cas nous avons eu ces trois affections réunies.

45 sérums de l'Institut prophylactique Vernes, parmi lesquels :

27 sérums de syphilitiques à degrés photométriques élevés, oscillant entre 35 et 143.

18 sérums de tuberculeux à degré photométrique à la résorcine de 27 à 137.

226 sérums pris au service sérologique de l'Institut Pasteur et comprenant indifféremment des sérums positifs et négatifs au Bordet-Wassermann.

Sur ces 304 sérums examinés, un seulement fut trouvé positif (n° 250). L'examen de ce malade décela une hypertrophie nette des nerfs cubitaux, plus marquée à droite, et, en plus, une sensation de fourmillement dans les deux derniers doigts de chaque main. Le malade nous déclara qu'au cours de trois séjours coloniaux précédemment faits sur la côte occidentale d'Afrique, il avait vécu, du fait de son travail, dans une certaine promiscuité avec les indigènes parmi lesquels il y avait des lépreux.

V. — Analyse des résultats.

Quels sont les enseignements que nous pouvons retirer de nos derniers résultats qui sont d'accord avec ceux déjà exposés par nous et avec la plupart de ceux publiés par d'autres expérimentateurs?

Tout d'abord nous croyons que les résultats discordants qui ont pu être trouvés sont dus à une technique insuffisante.

La sensibilité de la réaction nous apparaît nettement.

Elle ne se montre jamais dans une autre affection que la lèpre.

Ce sont déjà là deux propriétés que l'on ne trouve guère aussi nettement dans la plupart des réactions sérologiques, surtout si on leur demande de répondre à toutes les formes cliniques de la maladie.

Nous avons remarqué que l'intensité des réactions positives n'est pas liée à l'ancienneté de la maladie.

Dans certains cas de lèpre tubéreuse très ancienne, nous n'avons trouvé qu'une réaction faible, dans d'autres cas, frustes et récents, des réactions fortement positives.

Il nous semble que l'intensité de la réaction est plutôt en relation avec la forme clinique et le caractère évolutif de l'affection qu'avec l'ancienneté de l'infection. Il ne nous paraît pas impossible que le traitement modifie aussi les caractères humoraux des lépreux et leurs propriétés agglutinantes spécifiques. Enfin, dans la lèpre comme dans les autres affections expérimentales ou spontanées, il y a des sujets qui réagissent sérologiquement de façon toute différente, et nous croyons que ce facteur individuel vient s'ajouter à ceux que nous venons d'énumérer et qui sont susceptibles d'influencer l'intensité de la réaction.

La lèpre, d'autre part, est une maladie dont l'incubation peut être très longue; souvent des années s'écoulent entre le moment de la contagion et l'apparition des premiers symptômes cliniques. Nous ignorons si, au cours de cette longue incubation il ne se trouve pas un moment où les réactions sérologiques sont fortes. Dans cet ordre d'idées nous avons déjà quelques faits intéressants. Marchoux et Caro ont mentionné un cas de

réaction positive chez un sujet non porteur de bacilles, mais présentant une hypertrophie du nerf cubital et des taches achromiques; un autre cas chez un malade provenant de régions tropicales où la lèpre est fréquente et qui présentait un ganglion épitrochléen volumineux.

Le Dr Silva Araujo a relaté, au Congrès médical du centenaire de Montevideo, en 1930, le cas d'un sujet à réaction positive sans signe clinique mais qui, quelque temps après, présenta des symptômes caractéristiques de lèpre.

Enfin, nous-même venons de noter un cas positif chez un malade dont l'origine et l'hypertrophie des cubitaux permettent de se poser anxieusement la question suivante :

Quelle valeur devons-nous donc accorder à une réaction positive dans le cas où la recherche du bacille, parfois si difficile, est négative, où les signes cliniques sont nuls ou même insuffisants, mais où la contagion a été fort possible?

Nous ne pensons pas pouvoir affirmer la valeur diagnostique absolue de la réaction; mais nous croyons à une forte présomption et à la nécessité de surveiller le malade et de renouveler les examens.

Nous pensons aussi qu'il y aurait un intérêt considérable à entreprendre une grande expérimentation de la réaction dans un milieu où l'infection lépreuse est profonde; cela permettrait, croyons-nous, de répondre nettement à notre question par la confirmation de la valeur de la réaction dans le diagnostic de la lèpre et cela mettrait en évidence le profit qu'il est permis d'espérer de l'examen sérologique des sujets exposés à la contagion.

VI. — Conclusions.

1° Il existe dans les sérums lépreux une substance spécifique qui se fixe électivement sur les globules de mouton formolés et en amène l'agglutination et la sédimentation rapides;

2° Certains sérums humains, normaux ou pathologiques, possèdent aussi la propriété d'agglutiner et d'amener la sédimentation des globules de mouton;

3° Ces hétéro-agglutinines peuvent s'attacher indifféremment sur les globules de mouton naturels ou formolés;

4° On peut utiliser cette propriété pour les écarter en les fixant sur les globules de mouton naturels avant de faire agir les sérums lépreux sur les globules formolés ;

5° La réaction doit toujours se faire en présence des globules de mouton, formolés et naturels ;

6° La réaction doit être considérée comme positive quand elle se produit en moins d'une heure et que la sédimentation des globules formolés existe seule ou qu'elle est notablement plus marquée pour ceux-ci que pour les globules naturels ;

7° Elle est négative quand il n'y a pas d'agglutino-sédimentation ou quand la sédimentation est à peu près au même taux dans les deux séries de globules (naturels et formolés) ;

8° Sur 36 cas de diverses formes de lèpre, la réaction a été positive 27 fois, négative 7 fois et 2 fois douteuse ;

9° Dans 304 sérums provenant de diverses maladies la réaction est restée négative, sauf dans un cas, chez un sujet qui ayant fait plusieurs séjours aux colonies, a été reconnu porteur de deux nerfs cubitaux volumineux et de fourmillement dans les doigts intéressés. Des examens ultérieurs éclaireront sur la réalité d'une contamination lépreuse dans ce cas.

SUR L'ÉTIOLOGIE DES COLITES ULCÉREUSES (ÉTUDE CLINIQUE ET EXPÉRIMENTALE)

par R. BUTTIAUX et A. SÉVIN

*(Institut Pasteur de Lille et Clinique des maladies
des voies digestives de l'hôpital Saint-Sauveur à Lille.)*

Les colites qui figurent parmi les affections les plus fréquentes du gros intestin se traduisent anatomiquement par un état inflammatoire de la muqueuse. Tantôt bénin et passager, cet état peut être grave et présenter alors une évolution chronique. Ce sont les colites graves ulcéreuses, chroniques, le plus souvent hémorragiques, qui font l'objet de notre étude.

On connaît la symptomatologie des colites, dont le phénomène le plus précoce est la diarrhée presque toujours progressive, et qui se traduit à l'examen macro et microscopique par la présence de mucus, de leucocytes et de sang. Les symptômes généraux, discrets au début, s'accusent au fur et à mesure de la marche de la maladie : ce sont surtout l'anémie et l'amaigrissement.

C'est en première ligne l'examen local de l'intestin qui fournit les éléments du diagnostic; seule la recto-sigmoidoscopie permet d'effectuer correctement cet examen et comme nous le verrons ultérieurement de pratiquer des prélèvements utiles en vue de recherches bactériologiques. Cette manœuvre n'est cependant pas possible dans les cas de colites proximales et il faut alors avoir recours à la radiographie pour avoir une idée de la localisation et de l'importance des lésions (figure 1).

Les colites chroniques s'accompagnent souvent de lésions, soit intestinales, soit extra-intestinales. Parmi celles-ci les plus importantes au point de vue de nos recherches sont les syndromes entéro-rénal, entéro-hépto-vésiculaire, entéro-pulmonaire, la cholécystite et les complications articulaires sur

lesquelles nous insisterons particulièrement dans la suite de ce travail.

L'étiologie des colites retiendra plus longuement notre attention.

Bonorino Udaondo, dans son remarquable ouvrage sur les colites ulcéreuses chroniques, dit :

« Un des problèmes les plus difficiles de l'entérologie, —



FIG. 1. — Image radiographique de colite ulcéreuse du descendant (d'après Barga).

insoluble dans une infinité de cas — est celui de la cause déterminante de la colite ulcéreuse chronique. »

La majorité des auteurs s'accordent cependant aujourd'hui à reconnaître aux colites ulcéreuses une étiologie infectieuse. Mais ils diffèrent d'avis sur la détermination du germe infectant. Certains, comme Barga, attribuent à l'action d'un seul agent pathogène toutes les colites; d'autres, au contraire, reconnaissent à de multiples microbes la possibilité de créer l'ulcération et la maladie. Cette divergence d'opinions s'explique par le peu de connaissances précises que nous possédons encore de nos jours sur cette question et qui tient vraisemblablement aux mauvaises techniques bactériologiques employées jusqu'ici.

L'infection n'est pourtant pas seule à l'origine des colites. A côté d'elle doit être réservée une place au parasitisme intestinal. Les parasites intestinaux peuvent agir seuls, mais leur rôle le plus important sans doute est celui d'agents d'association avec les germes infectieux dont ils favorisent le développement en irritant la muqueuse intestinale qu'ils préparent ainsi à subir l'assaut des microbes pathogènes.

Un côlon parasité, même par des protozoaires considérés comme bénins, tels les *Lambliæ*, les *Amœba coli*, est un terrain indiscutablement plus favorable à l'éclosion des lésions graves déterminées par les organismes microbiens.

En nous basant sur des observations de malades rigoureusement suivis à l'aide d'une technique personnelle que nous exposerons, nous allons maintenant essayer d'évaluer l'importance des facteurs étiologiques que nous venons de signaler.

ETIOLOGIE INFECTIEUSE. — Avant d'aborder l'étude des colites infectieuses, il nous paraît indispensable d'exposer quelques remarques d'ordre général.

Le milieu intestinal est le siège d'une vie microbienne intense et variée. Les fèces renferment une flore qu'on retrouve identique chez presque tous les sujets normaux et aussi chez les sujets atteints de colites ulcéreuses. Cette flore se compose de *Bacterium coli*, d'entérocoques, de *Proteus* et de quelques autres microbes dont nous parlerons ultérieurement. Elle est un obstacle à l'étude bactériologique des colites lorsqu'on désire y déceler la présence d'organismes qui se développent difficilement en milieux artificiels. Il est indispensable, pour la recherche du germe pathogène de la colite, d'éliminer le plus possible cette flore gênante. Le seul moyen d'y arriver est d'abandonner *complètement* les fèces comme milieux de prélèvement. Cette précaution est nécessaire pour deux raisons :

A. Parce qu'elle facilite les recherches bactériologiques en évitant les inconvénients de la concurrence vitale en milieux de culture où l'avantage revient toujours aux espèces banales;

B. Et aussi, comme nous l'avons mis en évidence, au cours de nos travaux poursuivis pendant plus de cinq ans, parce que les microbes pathogènes ne se trouvent ou ne se retrouvent presque jamais dans les fèces.

Et ceci d'autant plus fréquemment que la colite ulcéreuse étudiée est plus grave. Le microbe infectant est niché dans la profondeur de l'ulcération. Pour le trouver, pour l'étudier, c'est à ce niveau qu'il faut aller le prélever.

Toutes nos études bactériologiques ont été faites en partant de prélèvements effectués au niveau des muqueuses recto-sigmoïdiennes. Le procédé le plus simple et le seul que nous ayons employé consiste à recourir pour ceci à la rectoscopie. Grâce au rectoscope, nous effectuons nos prélèvements au niveau des lésions dans les meilleures conditions de vision et d'asepsie. Nous exposerons notre technique à la fin de cet article.

D'autres procédés d'ailleurs ont été signalés depuis. Eugène Traut et Russel, Herrold ont conseillé le prélèvement à même la muqueuse rectale au moyen d'un doigt de gant stérilisé. Cette technique est inférieure à la nôtre; elle est aveugle et ne permet pas d'effectuer le prélèvement au niveau même de l'ulcération qui, dans la majorité des cas, n'est pas décelable par le toucher rectal. D'autre part, l'exploration ainsi pratiquée est limitée à une portion minime de la muqueuse rectale.

Le procédé du prélèvement rectoscopique soulève immédiatement une objection logique: si, dans les recto-sigmoïdites, notre technique est, jusqu'à présent la meilleure, dans les colites proximales il en est autrement de prime abord. Rien ne pourrait permettre d'affirmer qu'on trouve au niveau du recto-sigmoïde le même germe infectant que celui localisé dans les lésions cæcales par exemple.

Nous avons déjà discuté ce point de détail dans un article précédent publié par l'un de nous dans *La Presse Médicale*. Dans les colites secondaires à des rhinopharyngites, on retrouve au niveau du rhinopharynx le germe infectant isolé du rectum (identité bactériologique confirmée par des réactions sucrées homologues, des agglutinations semblables, etc...). De même Bargen, dans ses travaux sur cette question, a isolé le diplostreptocoque qui porte son nom au niveau d'ulcérations sigmoïdiennes en même temps que dans des foyers périapicaux dentaires et des lésions diffuses du cæcum. Il est donc vraisemblable que ces germes, qui sont les mêmes au niveau des deux extré-

mités du tube digestif, se retrouvent dans les lésions des parties moyennes du côlon. Ceci d'autant plus probablement, comme nous y insisterons ultérieurement, que la dissémination des germes des colites ulcéreuses se fait, au moins chez l'animal, par voie lymphatique : les ganglions mésentériques des divers étages de la cavité abdominale nous ayant paru infectés en masse au cours de nos études des colites ulcéreuses provoquées chez le lapin.

Quoi qu'il en soit, nous insistons sur la nécessité de prélever le matériel d'examen, en évitant autant que possible le contact des matières fécales, et chaque fois que cela est possible au niveau même des lésions, ce que seul le rectoscope permet de faire.

Les prélèvements ainsi correctement effectués permettent-ils d'isoler toujours le même germe comme le veulent les Unicistes et surtout A. Barga de la clinique Mayo qui affirme dans un article du 4 août 1930 des *Archives of Internal Medicine* avoir isolé un germe spécifique des colites graves ? Peut-on, au contraire, comme le soutiennent les Pluralistes, trouver dans les colites à symptomatologie identique des microbes fort différents ?

Sans prendre absolument parti contre les Unicistes, nous sommes conduits par toutes nos observations à admettre que les Pluralistes ont souvent raison. Il y a des colites à bacilles dysentériques, à *Bacterium coli*, à entérocoque, comme il y en a d'autres, à diplocoques de Barga.

C'est que, croyons-nous, le syndrome de la colite ulcéreuse peut être la conséquence d'une localisation secondaire parfois tardive, d'un germe infectant dont l'action s'était primitivement traduite par une infection générale.

Tel est le cas des colites consécutives à la dysenterie, aux infections généralisées dues aux salmonelloses, et il est naturel de retrouver alors au niveau des ulcérations soit un bacille de Hiss, soit un para C., soit un *B. coli* ou un entérocoque.

Mais il peut y avoir aussi des colites autonomes ne traduisant aucune complication ou réveil d'un état pathogène antérieur ; pour celles-là, la théorie uniciste a sans doute une grande valeur. Le germe isolé dans tous ces cas est-il le même ? Barga le pense.

Nous avons nous-mêmes isolé dans de semblables conditions un autre diplocoque voisin.

Dans cette étude, nous n'aborderons pas la question de la syphilis intestinale, ni de l'entérite tuberculeuse, que nous considérons comme en dehors de ce sujet, sans vouloir par là nier leur fréquence et leur importance, principalement en ce qui concerne la syphilis intestinale souvent trop méconnue.

Nous ne parlerons pas non plus ici des colites d'origine toxique (colites ulcéreuses par intoxication mercurielle).

Colites infectieuses.

Nous diviserons l'étude des colites infectieuses en deux chapitres :

Dans le premier, nous rapporterons les observations cliniques étudiées par nous en insistant particulièrement sur l'étiologie.

Le second sera réservé à l'étude expérimentale des colites ulcéreuses. Nous relaterons en détail les recherches que nous avons été à même d'entreprendre sur l'action pathogène expérimentale des germes isolés par nous chez nos malades et dont nous avons déjà donné, pour certains, les caractères morphologiques, culturels et biologiques.

Ce chapitre est le résumé de nos travaux personnels sur cette question. Nous n'insisterons pas, d'une façon générale, sur les travaux précédemment communiqués par d'autres auteurs, à ce sujet.

I. — Étude clinique.

a) COLITES ULCÉREUSES A BACILLES DYSENTÉRIQUES.

De nombreux auteurs ont cherché à préciser le rôle joué par les bacilles dysentériques dans l'étiologie des colites chroniques. On admettait jusqu'ici que ces microbes déterminaient surtout les phénomènes aigus de la dysenterie bacillaire. Schmidt a pourtant insisté sur la fréquence des lésions chro-

niques et ulcéreuses du côlon succédant aux dysenteries bacillaires aiguës. Nous nous rangeons à cette opinion à l'appui de laquelle nous apportons ici une observation clinique tout à fait démonstrative :

Observation 11.184 de la Clinique des voies digestives de l'hôpital Saint-Sauveur, à Lille (professeur Surmont).

Il s'agit d'un malade de trente-trois ans, mineur de profession. Durant la guerre 1914-1918, il a été dans un camp de concentration en Allemagne où il a contracté, au cours d'une épidémie, une dysenterie bacillaire. Depuis cette époque, il a présenté de fortes crises diarrhéiques qui n'ont cédé à aucun traitement. En février 1930, soit quatorze ans après le début de sa maladie, il se plaint de présenter des évacuations de fèces liquides, muqueuses, hémorragiques parfois, avec ténesme et épreintes et ce, 20 fois environ par vingt-quatre heures. L'état général est mauvais. A la rectoscopie on trouve, à 7 centimètres, un rétrécissement du rectum, annulaire, saignant, recouvert de petites exulcérations. Un écouvillonnage des lésions est pratiqué; l'ensemencement met en évidence du bacille de Hiss. Le sérum du malade agglutine la souche isolée de son rectum et une souche de la collection du laboratoire au taux maximum de 1 p. 100. Il est impossible de mettre en évidence dans les selles un phage actif pour le germe isolé, qui se laisse pourtant bactériophager facilement par un phage de notre collection.

L'administration *per os* de ce phage au malade amène une diminution considérable des selles (7 à 8 par jour) et la disparition complète des hémorragies. Une rectoscopie de contrôle montre une cicatrisation des ulcérations, mais naturellement le rétrécissement persiste.

Cette observation de colite post-dysentérique peut être rapprochée de celles étudiées par Loewenthal. Nous y retrouvons notamment le fait signalé par lui de la présence d'une agglutination très faible pour le germe isolé. De même, nous avons rencontré deux colites chroniques hémorragiques où l'étude bactériologique a permis d'isoler dans l'une, un bacille de Flexner, dans l'autre, un bacille de Hiss. Dans les antécédents de ces deux malades, on retrouvait huit à dix mois auparavant un épisode d'entérite aiguë avec défécations dysentériques qui

n'ont pas été étudiées au point de vue bactériologique et qui ont cédé spontanément en quelques jours. Ces phénomènes ont été suivis d'une période d'accalmie, entrecoupée pourtant d'émission de selles pâteuses avec état subfébrile. Ce n'est qu'au bout de huit à dix mois que les malades ont présenté des signes nets de recto-sigmoïdite, avec épreintes, ténésme, émissions de selles muco-sanglantes. A la rectoscopie, ces malades présentaient des lésions nettes de leur muqueuse sigmoïdienne, avec tendance exulcération. Ces malades présentaient également, dans leur sérum, des agglutinines en faible quantité pour les bacilles isolés.

Dans ces trois observations, il nous faut noter un laps de temps plus ou moins long, mais constant, entre la dysenterie aiguë et l'apparition des lésions recto-sigmoïdiennes. Le bacille dysentérique subit donc dans cette période intercalaire une phase de vie latente. On ne saurait préciser l'endroit exact de l'organisme où il va se nicher cependant.

Il est possible qu'il gagne précocement la muqueuse colique du recto-sigmoïde dans les observations qui nous intéressent et y subisse une période d'exaltation brutale à la suite d'un processus connexe (putréfaction intestinale, fermentation, etc.).

Pourtant il faut envisager la possibilité du séjour du bacille dysentérique dans la vésicule biliaire. Cette hypothèse a déjà été soutenue par Vincent, puis critiquée par d'autres auteurs. Nous rapportons ci-dessous une observation que nous jugeons démonstrative à ce sujet et qui nous permet de confirmer les travaux de Vincent.

Il s'agit d'une malade qui, au cours d'une villégiature d'été, a fait, en même temps que toute sa famille, une crise dysentérique typique (température à 40°, 30 selles dysentériques par vingt-quatre heures). Ces phénomènes se sont atténués assez rapidement, mais la malade présente quatre mois après, une cholécystite infectieuse avec ictère et température élevée. Un tubage duodénal pratiqué à ce moment permet d'isoler un bacille de Flexner et un streptocoque. Cette observation nous paraît intéressante. Il serait utile de pratiquer plus souvent à notre avis la recherche du bacille dysentérique dans les biles prélevées par tubage duodénal.

Les colites infectieuses à bacilles dysentériques, sans tenir

dans notre statistique une place très importante, représentent cependant environ 5 p. 100 des cas de colites graves qu'il nous a été permis d'observer.

On est en droit de se demander pourquoi ces manifestations colitiques secondaires aux dysenteries sont relativement si fréquentes. Nous avons signalé précédemment la présence en faible quantité des agglutinines dans les sérums des malades observés. C'est un indice d'une défense organique faible vis-à-vis du germe isolé. D'autre part, chez le malade qui a fait l'objet de notre première observation, il nous a été impossible d'isoler un phage actif pour le bacille de Hiss trouvé dans les lésions colitiques. On connaît aujourd'hui le rôle capital attribué au phage anti-dysentérique dans la guérison des dysenteries aiguës. Son absence explique peut-être la chronicité de l'affection que nous avons pu observer.

b) COLITES ULCÉREUSES A *SALMONELLA*.

Dans 132 cas de colites graves, nous avons isolé 12 fois un bacille de Morgan, c'est-à-dire dans un pourcentage de 11 p. 100 des cas. Cette simple remarque indique l'intérêt qu'il faut apporter à la recherche de ces germes comme agents étiologiques des colites ulcéreuses.

Toutes les observations où nous avons isolé des *Salmonella* se ressemblent. Il s'agit de malades qui ont présenté progressivement des phénomènes diarrhéiques de plus en plus prononcés, cédant au début à des traitements banaux, puis devenant de plus en plus graves et résistant à toute thérapeutique.

Chez une de nos malades qui présentait ces phénomènes depuis cinq ans, la rectoscopie mettait en évidence de larges plaques sigmoïdiennes, hémorragiques, suintantes, recouvertes de mucus. L'examen bactériologique a permis d'isoler un bacille de Morgan et un entérocoque. Cette même malade souffrait d'une cystite datant de deux années. L'examen des urines a permis d'y déceler la présence d'un bacille de Morgan identique à celui isolé du prélèvement sigmoïdien. Ces deux germes étaient agglutinés à un taux de 1 p. 200 par le sérum de la malade. Il existait dans ce sérum des coagglutinines au taux de 1 p. 100 pour le paratyphique B.

Le bacille de Morgan nous semble être la plus fréquente des *Salmonella* à rôle étiologique net dans les colites ulcéreuses. Pour notre part, nous n'avons jamais rencontré des bacilles paratyphiques A, B ou C.

Le bacille de Castellani que nous avons isolé fréquemment se rencontre dans les colites bénignes. Dans les colites graves, son rôle nous a paru accessoire; la cause déterminante dans les cas observés par nous nous ayant été démontrée comme étant d'une nature non douteuse (nous l'avons rencontré dans deux cas de dysenterie amibienne en particulier, dans un autre cas, associé à la spirillose; ici, d'ailleurs, nos recherches ne nous permettent pas d'affirmer complètement l'une ou l'autre étiologie).

L'infection initiale du malade par ces *Salmonella* est souvent difficile à préciser. Il peut s'agir d'une intoxication alimentaire ou d'une contamination par une eau de boisson souillée par des déjections. C'est le cas d'une de nos malades habitant la campagne et qui emploie comme eau potable une eau de puits provenant d'une couche aqueuse superficielle où l'analyse a mis en évidence d'une façon constante de très nombreux *B. coli* et d'une façon intermittente la présence d'une *Salmonella* très voisine du bacille de Morgan. Dans la majorité des cas, pourtant, il est impossible de préciser l'origine et le moment de la contamination.

L'étude expérimentale de la colite à *Salmonella* permet de mettre en évidence un fait déjà bien étudié par Weinberg, savoir : le rôle capital de l'entérocoque, qui associé aux *Salmonella* exalte considérablement leur virulence. Nous reviendrons plus particulièrement sur ce sujet dans la seconde partie de ce travail.

Les *Salmonella*, le bacille de Morgan en particulier, se comportent dans l'étiologie des colites comme les bacilles dysentériques, dans la majorité des cas.

Chez 8 des 12 malades qu'il nous a été permis d'observer, les phénomènes morbides ont commencé par une période aiguë comparable à une paratyphoïde : poussée fébrile, douleur abdominale généralisée, état général typhique, émission de selles diarrhéiques glaireuses, très fréquentes. Une rémission survenait ensuite, puis au bout de quelques mois, mais généralement

dans un laps de temps plus court que pour les colites à bacilles dysentériques, le malade présentait des signes de colite généralisée ou localisée.

C'est à ce moment que la rectoscopie permettait le plus souvent de dépister les lésions hémorragiques ou ulcéreuses de la muqueuse recto-sigmoïdienne.

Les colites à *Salmonella* sont généralement très améliorées par le traitement vaccinal. Dans certains cas pourtant, en particulier chez des sujets cachectisés, on voit survenir rapidement et avant que le traitement ait pu être mis en œuvre, une poussée septicémique grave, à pronostic redoutable. C'est le cas d'une de nos malades, âgée de soixante-treize ans, qui présentait une sigmoïdite localisée à bacille de Morgan qui fit brusquement, avant qu'on pût instituer un traitement vaccinal, une infection généralisée avec clochers thermiques à 41°2.

c) COLITES ULCÉREUSES A GONOCOQUES.

Les rectites gonococciques sont connues de longue date. Certains auteurs ont voulu retrouver cette étiologie dans de nombreux autres cas de colites ulcéreuses. Nous nous permettons de faire quelques réserves sur cette généralisation. Le diagnostic clinique est fondé surtout sur des présomptions de contagé. Le diagnostic bactériologique du gonocoque est, en effet, basé dans la plupart des cas sur le simple examen direct des frottis des lésions et sur la constatation de diplocoques intracellulaires. Les cultures du gonocoque sont, en effet, sinon impossibles, du moins très difficiles. Elles le sont déjà quand on part de produits à peu près purs comme l'exsudat urétral, on comprendra facilement que la tâche est encore plus ardue quand on trouve dans ce produit de prélèvement une flore d'accompagnement aussi vivace que la flore intestinale.

Quoi qu'il en soit, la rectite ulcéreuse et la recto-sigmoïdite ulcéreuse à gonocoques peuvent atteindre, surtout quand elles sont mal traitées, un degré de gravité considérable. Nous rapporterons à ce sujet l'observation 11.062 de la Clinique des maladies des voies digestives du professeur Surmont.

Il s'agit d'un jeune homme de quinze ans qui, dans une colonie pénitenciaire, a subi les sévices et les pratiques pédé-

raстiques d'un co-détenu. Un an environ après cet épisode, ce malade se présente à la clinique avec un écoulement anal hémorragico-purulent constant. La rectoscopie nous montre un sphincter anal délabré, atonique, une muqueuse rectale avec un piqueté hémorragique, et çà et là sur le recto-sigmoïde la présence d'énormes ulcérations recouvertes de pus jaunâtre, saignantes au moindre toucher. Les frottis de ces ulcérations montrent de très nombreux diplocoques intracellulaires, gram-négatifs, qu'on peut considérer avec quasi certitude comme du gonocoque. La culture est restée impossible. Les multiples traitements employés n'ont malheureusement amené aucune amélioration nette de ces lésions. Il n'en est pas ainsi dans la majorité des cas pourtant et la rectite gonococcique reste d'un pronostic favorable.

Il nous paraît intéressant d'attirer l'attention sur le rôle joué dans la chronicité de ces rectites gonococciques par les microbes d'accompagnement, et surtout par le staphylocoque doré que l'on retrouve très fréquemment dans la flore des ulcérations dont sont porteurs les malades. Fréquemment, un traitement vaccinal local par bouillon antiviral préparé à partir de ces germes d'accompagnement isolés permet d'améliorer considérablement les sujets. C'est le cas d'une de nos malades qui présentait une rectite gonococcique chronique s'accompagnant d'écoulement purulent constant par l'anus et où l'examen bactériologique a permis d'isoler du staphylocoque doré. Les attouchements des lésions au moyen d'auto-bouillon antiviral préparé à partir du germe isolé a tari rapidement cet écoulement qui représentait pour notre malade un des phénomènes les plus gênants de sa maladie.

d) COLITES ULCÉREUSES A FLORE BACTÉRIOLOGIQUE BANALE.

Nous appelons ainsi les colites où l'examen bactériologique a permis de mettre en évidence des germes que l'on peut retrouver d'une façon banale soit dans l'intestin, soit dans d'autres régions de l'organisme. Nous allons passer en revue ces divers germes en insistant plus particulièrement sur quelques-uns d'entre eux.

1. *Le streptocoque.*

Le rôle du streptocoque dans les colites ulcéreuses a déjà été signalé par Lockart. Pour nous, nous avons retrouvé 28 fois ce germe dans 132 cas graves. Une restriction s'impose : nos recherches ont été faites en partie à une époque où nos connaissances sur le diplo-streptocoque de Bergen étaient peu précises. Il est possible que quelques-uns des streptocoques isolés par nous aient été homologuables au germe isolé par cet auteur.

La majorité de ces streptocoques n'est pas hémolytique. Deux d'entre eux pourtant ont produit une forte hémolyse en milieux artificiels.

2. *Le staphylocoque.*

Nous n'avons tenu compte au cours de nos recherches que des staphylocoques dorés produisant une forte réaction en injection intradermique chez nos malades. Nous avons trouvé ainsi un pourcentage de 9 p. 100 dans les colites graves examinées.

Fréquemment, d'ailleurs, on retrouve en même temps d'autres lésions telles que : la furonculose, l'impétigo, l'eczéma transformé, l'ulcération superficielle des téguments où on isole, de même, ce germe.

3. *Le bacille pyocyanique.*

4. *Le pneumobacille.*

Ces deux derniers microbes nous ont paru fréquents dans les colites secondaires à des rhinopharyngites chroniques. Les congestions de muqueuses recto-sigmoïdiennes qu'ils déterminent parfois semblent d'ailleurs assez bénignes et rétro-cèdent presque toujours au traitement vaccinal de la rhinopharyngite.

Les colites secondaires aux rhinopharyngites se rencontrent surtout chez les enfants et elles peuvent présenter un certain caractère de gravité surtout lorsqu'elles s'accompagnent de néphrite aiguë, hématurique, sur laquelle ont justement insisté

de nombreux auteurs. Elles déterminent fréquemment une déficience générale de l'organisme de l'enfant, due d'une part à l'infection chronique qu'elles entretiennent, d'autre part aux troubles dyspeptiques généraux qu'elles suscitent secondairement. Elles peuvent d'ailleurs atteindre un degré de chronicité tout à fait remarquable et subsister seules alors que les phénomènes rhinopharyngés ont disparu sous l'influence d'un traitement médical ou chirurgical. C'est ainsi qu'il nous est arrivé assez fréquemment de trouver chez des sujets de trente à trente-cinq ans des colites à pneumobacilles; la présence de ce germe ayant attiré notre attention sur le passé rhinopharyngé des malades, ceux-ci ont pu faire remonter leurs troubles colitiques à une rhinopharyngite de leur jeune âge qui avait disparu à la suite d'une ablation d'un cornet ou de végétations adénoïdes.

On ne saurait trop insister sur cette notion. La rhinopharyngite représente à notre avis l'une des causes les plus fréquentes, sinon des colites graves, du moins de la majorité des colites bénignes.

Nous dirons la même chose pour ce qui est de colites secondaires à des infections dentaires. C'est une notion sur laquelle les auteurs américains ont justement insisté.

5. *B. perfringens* et bacilles anaérobies.

On a pendant longtemps ignoré le rôle des germes anaérobies dans l'étiologie des lésions coliques probablement parce que leur recherche est laborieuse et nécessite même une certaine spécialisation du bactériologiste. On sait actuellement l'importance considérable de ces germes dans l'appendicite; il en est presque certainement de même dans les colites ulcéreuses. Nous rapporterons à ce sujet l'observation de M. R. G... (Clinique des maladies des voies digestives du professeur Surmont) qui présentait une recto-sigmoïdite granuleuse avec petites exulcérations sanieuses. L'examen bactériologique des prélèvements effectués a permis de trouver une culture presque pure de *B. perfringens*. La vaccinothérapie combinée à la sérothérapie anti-gangréneuse a déterminé une amélioration rapide et considérable des lésions, contrôlée par la rectoscopie.

Il nous semble qu'il serait intéressant de pratiquer plus assidûment la recherche des anaérobies dans les colites ulcéreuses; il est vraisemblable qu'on montrerait ainsi la place très importante que ces germes tiennent dans l'étiologie de ces infections.

Weinberg vient d'attirer l'attention sur la facilité avec laquelle le *B. perfringens* détermine des lésions hémorragiques. On comprend qu'il soit un agent possible des colites hémorragiques.

De même, au cours d'examens bactériologiques, peu fréquents il est vrai, pratiqués sur des frottis de néoplasmes du rectum, nous avons trouvé fréquemment du *B. perfringens* associé à d'autres microbes (dans un cas : *B. perfringens*, bacille pyocyanique, *Bacterium coli*, streptocoque).

Il est possible que la présence de ce microbe explique les échecs fréquents d'opérations semblant devoir être bénignes, portant sur des néoplasies rectales à marche rapide (extériorisation de l'anse intestinale en vue de la pratique d'un anus artificiel). Nous avons pu observer, à la suite de ces traumatismes chirurgicaux peu importants, une mort rapide à laquelle on ne pouvait s'attendre et qui s'explique peut-être par une poussée septicémique due à l'un de ces microbes. Dans ces cas, il serait très intéressant de pratiquer systématiquement la sérothérapie anti-gangréneuse préventive.

6. Microbes de la flore habituelle de l'intestin.

Nous parlerons plus particulièrement du *Bacterium coli* et de l'entérocoque. La présence de ces germes dans l'intestin de sujets sains ne permet pas d'écarter leur rôle étiologique possible dans les colites graves. Ils seraient susceptibles, en effet, sous l'influence de facteurs variés, de voir leur virulence brusquement exaltée. Différents procédés permettent au bactériologiste de se rendre compte de l'exaltation de cette virulence.

Pour le *Bacterium coli*, il pourra avoir recours à la recherche du germe dans les urines.

Certains auteurs ont tendance, actuellement, à admettre que cette présence est banale et se retrouve fréquemment chez des sujets absolument normaux. Telle n'est pas notre opinion.

Des expériences de contrôle faites chez des individus ne pré-

sentant aucune lésion intestinale ou rénale nous ont montré l'absence très fréquente de ce germe dans les urines. Il est nécessaire évidemment d'effectuer des prélèvements rigoureusement aseptiques, et c'est justement la difficulté d'éviter les contaminations de voisinage qui rend cette asepsie difficile. On pourra avoir recours également à la sérô-agglutination, par le sérum du malade, du *Bacterium coli* isolé. Ce dernier procédé n'est d'ailleurs pas parfait, même si l'on ne tient compte que des agglutinations supérieures à 1 p. 200 : on trouve en effet des sérums d'individus normaux agglutinant les *B. coli* isolés de leur fèces à des taux dépassant cette limite (1 p. 300 chez 3 individus témoins).

Pour l'entérocoque, on pourra pratiquer également sa recherche dans les urines; mais il est à notre avis un procédé nettement supérieur, permettant d'apprécier exactement la sensibilité d'un sujet à l'entérocoque, isolé de ses lésions coliques : c'est l'intradermo-réaction. On sera d'ailleurs étonné de retrouver rarement de fortes réactions à cette injection. C'est là, nous le croyons, un point de plus en faveur de cette pratique puisque les individus normaux présentent presque constamment de l'entérocoque dans leurs fèces.

Nous ne reviendrons pas ici sur l'association de l'entérocoque avec les germes banaux, tels que le *Bacterium coli*, le *Proteus*, etc. Weinberg a montré d'une façon très démonstrative que ces microbes, incapables de déterminer expérimentalement des lésions chez l'animal, prennent une virulence surexaltée quand ils sont associés à l'entérocoque. On s'explique ainsi la possibilité de leur action étiologique dans les colites graves.

Le plus souvent, le *Proteus*, le *Bacterium coli*, l'entérocoque sont les agents étiologiques des colites bénignes ou de gravité moyenne. Parfois ces germes constituent les seuls éléments microbiens déterminant les lésions ulcéreuses des colites graves.

Nous rapporterons à ce sujet l'observation de M. F. A..., vu par M. le professeur Surmont dans sa clientèle.

Ce malade qui a présenté une diarrhée sanglante durant plusieurs mois était porteur de lésions coliques mises en évidence par une rectoscopie. On trouvait une recto-sigmoïdite chronique hypertrophique au niveau de la face inférieure de la deuxième

valvule de Houston. Plus haut, deux ulcérations ovalaires de la dimension d'un petit haricot, noyées dans un fond de recto-sigmoïdite chronique, hémorragique, diffuse.

Les recherches parasitologiques sont restées négatives. Le sérum du malade ne possédait pas d'agglutinine pour le T. A. B. ni pour les bacilles dysentériques. La recherche du diplo-streptocoque de Bergen, du diplocoque de la recto-sigmoïdite isolé par nous, est restée également vaine. L'examen bactériologique du prélèvement effectué sous rectoscopie, au niveau d'une ulcération, a permis d'isoler du *Proteus*, du *Bacterium coli*, de l'entérocoque.

Ce qui prouve le rôle étiologique de ces trois germes dans ce cas est l'amélioration immédiate suivie bientôt de guérison obtenue par l'emploi d'un auto-vaccin préparé avec ces trois microbes et administré par la bouche.

e) COLITES ULCÉREUSES A DIPLO-STREPTOCOQUE DE BERGEN.

Dans un article récent, J. A. Bergen, passant en revue la série détaillée des travaux qu'il a consacrés aux colites ulcéreuses, insiste à nouveau sur le rôle étiologique spécifique du germe isolé par lui dans les cas de ce genre.

Il s'agit d'un diplo-streptocoque légèrement lancéolé, assez fin, prenant le Gram. Ce germe possède un caractère cultural important au premier passage en milieux artificiels: il ne se développe bien qu'en semi-anaérobiose. Ensemencé en surface, lors du premier isolement, ses cultures sont généralement très maigres ou même nulles (fig. 2).

Le diplo-streptocoque de Bergen nécessite en plus, pour son développement, des milieux sucrés et riches en vitamines. C'est pourquoi l'auteur recommande l'emploi du bouillon glucosé cérébrosé de Rosenow, recouvert de paraffine. Nous reviendrons ultérieurement sur ce milieu.

Ce microbe se distingue de l'entérocoque par son aspect spécial en culture (culture fine en gélose, rappelant la culture du streptocoque; en outre, il ne fermente pas la mannite). Il se distingue du pneumocoque par l'absence de fermentation de l'inuline. Il est de plus légèrement hémolytique: ses colonies s'entourent sur gélose-sang d'une petite auréole verdâtre.

Il résiste à un chauffage à 55° pendant quarante-cinq minutes.

Le caractère principal qui permet d'identifier ce germe est l'agglutination. Bargaen est arrivé par injection au lapin à obtenir un sérum agglutinant son microbe à des taux élevés : 1 p. 10.000. Ce sérum posséderait des co-agglutinines à des taux beaucoup moins élevés : 1 p. 1.000 pour l'entérocoque.

Nous tenons pourtant à signaler que le sérum agglutinant le diplo-streptocoque de Bargaen qui nous a été remis avec une

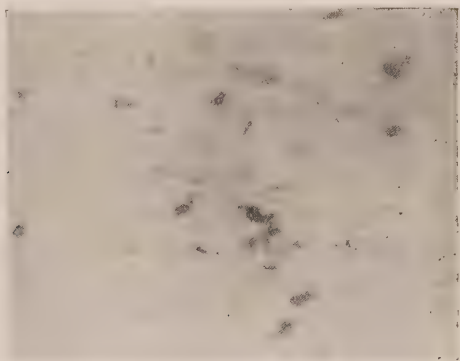


FIG. 2. — Le diplo-streptocoque de Bargaen.

grande obligeance par G. F. Fasting de la « Mayo Clinic » agglutinait à 1 p. 3.000 certaines souches d'entérocoques prises dans notre collection (souches caractérisées par la fermentation de la mannite, un développement abondant en bouillon glucosé bile et une résistance à 60° pendant trente minutes).

Bargaen a retrouvé le germe isolé par lui dans un très grand nombre de colites ulcéreuses. La recherche en a été faite par écouvillonnage des ulcérations, sous rectoscopie. Il est nécessaire de racler profondément les lésions, l'habitat général du germe étant dans la profondeur des tissus lésés. Il a d'ailleurs pu retrouver son microbe par hémoculture dans le sang de six malades atteints de formes aiguës graves de colites ulcéreuses.

La porte d'entrée du germe paraît être la cavité buccale. On retrouve en effet fréquemment le diplo-streptocoque dans les abcès dentaires péri-apicaux et dans les abcès amygdaliens.

Le sérum des malades possède des agglutinines en très faible quantité pour ce germe. La recherche de celles-ci ne présente d'ailleurs, d'après Bargaen, aucun intérêt diagnostique.

L'expérimentation a permis de montrer également le rôle joué par les abcès péri-apicaux dans les colites ulcéreuses. On injecte chez le chien, dans l'intérieur de la pulpe d'une dent préalablement découronnée, quelques gouttes d'une culture de diplo-streptocoques en milieu liquide. On recouvre ensuite d'un amalgame. Quelques jours après cette opération, l'animal présente de la diarrhée et l'autopsie montre la présence d'ulcérations coliques à diplocoques de Bargaen.

Il est indispensable pour obtenir ces résultats expérimentaux d'employer des souches fraîchement isolées des lésions ulcéreuses du côlon des malades. Ce germe perd en effet très rapidement de sa virulence en milieux artificiels.

Bargaen a obtenu en immunisant des chevaux un sérum thérapeutique qui, d'après sa communication dans les *Archives of Internal Medicine* de janvier 1929, présente une incontestable efficacité. Ce sérum est réservé au traitement des formes aiguës ou des poussées aiguës au cours des colites ulcéreuses. Il a aussi préparé un stock-vaccin injectable qui amène une grosse amélioration chez le malade et dont l'emploi est plus particulièrement réservé aux formes chroniques sans phénomènes aigus surajoutés.

Ces divers points ont permis à Bargaen de considérer que le germe isolé par lui était l'agent spécifique de la colite ulcéreuse. Pour lui, d'ailleurs, il est le seul responsable de ces affections; il suffit en effet, d'après cet auteur, d'effectuer convenablement le prélèvement et l'ensemencement pour retrouver le microbe d'une façon constante. On l'isole facilement dans la profondeur des lésions où il existe à l'état presque pur; à la superficie des ulcérations, on le retrouve mêlé à d'autres microbes tels que les bacilles dysentériques, mais, pour lui, ces derniers sont sans intérêt étiologique.

Nous ne pouvons pas nous rallier complètement à ces conclusions. Nous ne nions pas l'importance du diplo-streptocoque de Bargaen; nous l'avons retrouvé chez quelques-uns de nos malades. Pourtant, sa recherche est restée vaine entre nos mains dans de nombreux autres cas de colites ulcéreuses où

nous avons pu affirmer le rôle étiologique d'autres germes.

En employant les règles générales de culture que nous signalons plus loin, nous avons, pour notre part, pu isoler le diplo-streptocoque de Bargaen chez un malade dont nous rapportons ci-dessous l'observation. Il s'agit d'un malade de trente-sept ans qui nous a été aimablement adressé par le Dr Pirson, de Huy (Belgique). Pas d'antécédents personnels. En 1927, le malade présente une crise diarrhéique aiguë : 10 à 20 selles par jour, muqueuses et sanglantes, température à 40°. Ces phénomènes durent trois mois puis sont améliorés par l'administration de Yatren et d'Elko-Sam. Cette amélioration dure un an, entrecoupée pourtant de petites crises diarrhéiques (6 à 8 selles par jour). Apparition au bout de ce temps de 2 phlébites des membres inférieurs et d'ulcérations superficielles des téguments des jambes. L'état général périclité, le malade présente à nouveau une diarrhée presque constante. On décide d'intervenir chirurgicalement; on fait d'abord une dérivation partielle puis un anus cæcal. L'état général s'améliore, mais après l'opération on voit survenir des crises de rhumatismes poly-articulaires avec poussées thermiques à 38°. La rectoscopie pratiquée avant l'intervention avait mis en évidence sur la totalité des muqueuses recto-sigmoïdiennes des petites ulcérations miliaires, purulentes. Nous avons observé le malade en août 1930. A ce moment, l'état général était bon, mais on constatait à la rectoscopie un gros rétrécissement rectal à 40 centimètres, n'admettant même pas une sonde Nélaton n° 16. Ce rétrécissement était recouvert d'ulcérations sanieuses. Un prélèvement rectoscopique effectué et examiné selon la technique de Bargaen a permis de mettre en évidence un diplo-streptocoque identique à celui isolé par cet auteur.

Il existait d'ailleurs en culture pure au niveau des ulcérations examinées.

Ce germe a été retrouvé chez un malade de la clientèle du Dr Tiprez, M. L. J..., qui présentait une ulcération sigmoïdienne vaste et dont le début remontait à plus de cinq ans. L'étiologie chez ce malade n'avait pu jusqu'alors être précisée.

Ces constatations nous permettent donc d'admettre le rôle important joué par le diplo-streptocoque de Bargaen dans les colites ulcéreuses. Sans nous rallier à la théorie de l'unicité

microbienne dans l'étiologie des colites ulcéreuses, thèse défendue par cet auteur, nous croyons qu'il est indispensable actuellement de rechercher cet organisme dans tous les cas de colites ulcéreuses. Un examen qui laisserait de côté cette recherche serait insuffisant et incomplet. Nous sommes, nous le croyons, les premiers à avoir isolé en France le diplo-streptocoque de Bergen. Nous pensons que la recherche pratiquée selon la technique signalée permettra à d'autres médecins de retrouver plus fréquemment que l'on était porté à le croire lors de la première publication de cet auteur, ce germe, dans les colites ulcéreuses.

f) RECTO-SIGMOÏDITES HÉMORRAGIQUES A DIPLOCOQUE ISOLÉ
PAR NOUS ET NON ENCORE SIGNALÉ JUSQU'ICI.

En juillet 1929, nous avons observé à la Clinique des voies digestives du professeur Surmont une malade, M^{lle} M. C..., âgée de quarante et un ans, venant consulter pour diarrhée remontant à quatre ans. Pas d'antécédents personnels, pas de troubles gastro-intestinaux antérieurs à son affection. Elle a commencé à présenter sans cause apparente de la diarrhée : selles liquides augmentant peu à peu de fréquence, atteignant parfois le chiffre de 40 par vingt-quatre heures. Ces selles étaient constituées par de nombreux muco-glaires mêlés de sang rouge en assez grande abondance. Ces défécations étaient impérieuses, n'ayant aucun rapport avec les repas et tout d'abord, absolument indolores. La malade reste un an sans se soigner, mais l'état général devient très mauvais (amaigrissement de 12 kilogrammes en un mois); elle va alors consulter divers médecins qui font le diagnostic de colite hémorragique sans arriver à en préciser la cause. Divers traitements sont essayés sans grands résultats.

Deux ans après le début de cette affection, les douleurs apparaissent au moment des défécations : ténésme, épreintes, violentes coliques du descendant. Le selles gardent toujours leurs caractères initiaux, elles sont cependant un peu moins abondantes : 15 à 20 par jour. La malade, d'autre part, se plaint de vives douleurs articulaires, principalement localisées au cou-de-pied et au genou. Au moment de son entrée dans le service,

une rectoscopie est pratiquée. On pénètre jusqu'à 10 ou 12 centimètres; l'examen des régions supérieures est impossible, tant il détermine de douleurs vives. On trouve une muqueuse réduite en une véritable « bouillie sanglante ». Après lavage au sérum physiologique, un prélèvement est effectué au niveau des zones les plus hémorragiques. La culture de ce prélèvement en milieux albumineux permet de mettre en évidence un germe que nos recherches expérimentales ultérieures nous ont permis d'identifier comme spécifique de cette affection recto-sigmoïdienne. D'autre part, ce microbe n'a pas encore été signalé jusqu'ici, à notre connaissance. Nous allons résumer ses caractères principaux et étudier son action pathogène chez les animaux de laboratoire.

ASPECT MORPHOLOGIQUE. — Il s'agit d'un diplocoque, petit, arrondi, non capsulé (l'absence de capsule a été notée dans les produits pathologiques, aussi bien que dans les milieux de culture, albumineux ou non), se disposant volontiers en tétrades, n'ayant jamais présenté l'aspect en chaînettes depuis que nous l'étudions. Il est immobile. Il se colore facilement et prend le Gram (à condition de ne pas pousser trop loin la décoloration) (fig. 3).

CARACTÈRES CULTURAUX. — La température optima de développement est de 37°. La culture se fait difficilement sur les milieux habituels. Après quarante-huit heures d'étuve à 37° on note les caractères suivants : en bouillon ordinaire, trouble très léger s'éclaircissant très lentement par le repos (huit jours) avec dépôt blanchâtre, peu abondant, pas de collerette (culture maigre). Sur gélose ordinaire (ensemencement en surface), semis de petites colonies rondes, à contours nets, légèrement surélevés au centre, translucides (culture maigre). En bouillon albumine, mêmes caractères qu'en bouillon ordinaire, développement un peu plus abondant. En eau peptonée, développement insignifiant : très léger trouble, pas de dépôt. En gélatine (ensemencement en piqure) : culture en trainée blanchâtre formée de très petites colonies isolées, pas de liquéfaction du milieu. Sur pomme de terre : pas de développement apparent. Sur sérum coagulé : développement très peu abondant, très petites colonies, pas de liquéfaction. En milieu de

Truche : trouble avec dépôt léger, blanc, développement beaucoup moins important qu'en bouillon ordinaire. En bouillon sang : pas d'hémolyse; trouble homogène important, culture beaucoup plus abondante que dans les autres milieux. Sur gélose au sang : développement abondant très rapide, colonies plus épaisses que sur gélose albumine, de couleur blanchâtre.

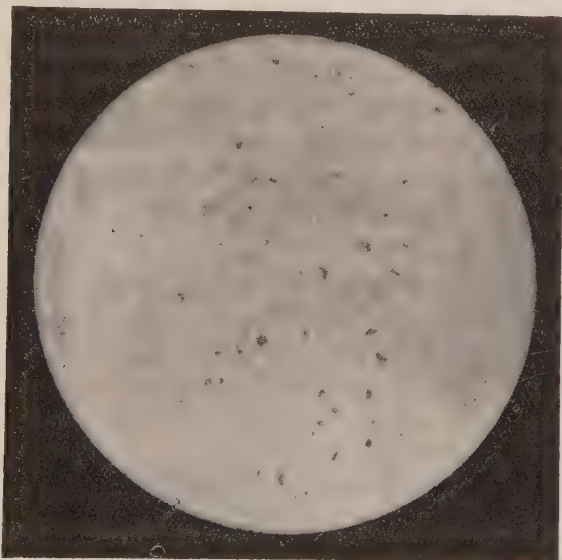


FIG. 3. — Le diplocoque de la recto-sigmoïdite hémorragique. (Photographie due à l'obligeance des Docteurs Piette et Chavy.)

En bouillon vitaminé, contenant 10 p. 100 d'extrait globulaire, préparé selon la technique de Legroux : développement abondant rapide, avec trouble homogène du milieu, culture presque aussi abondante que sur le bouillon au sang. Ces trois derniers milieux sont ceux qui conviennent le mieux au développement de notre microbe.

Action sur les sucres : a) Le milieu de Barsiekow est acidifié et il n'est pas coagulé en présence de glucose, de lactose, de maltose, de saccharose; il n'est pas acidifié quand il renferme de la dulcité, du lévulose, de l'inuline ou de la mannite.

b) En bouillon sucré (dulcité, saccharose et glucose) on ne constate pas de dégagement gazeux.

Le microbe ne se développe pas en bouillon bilié ni en bouillon glucosé-bilié. La réaction de Neufeld est négative. En présence du rouge neutre, il n'y a pas de fluorescence; le milieu B n'est pas touché. La gélose au plomb ne noircit pas.

Le diplocoque est un aérobie strict, il ne se développe pas en gélose Veillon, même après huit jours d'étuve à 37°.

Ce microbe est très résistant; les repiquages en bouillon sont possibles après un mois de conservation à l'étuve. Le microbe chauffé en pipettes scellées, au bain-marie à 60° pendant trente minutes, peut être repiqué sur gélose. Il ne donne alors que des formes de résistance (grosse colonie blanchâtre, ronde, à contours nets). Ces formes, après deux passages sur gélose ordinaire, reproduisent le microbe du type habituel.

Tous les caractères que nous venons d'exposer ont été observés, sans aucun changement, à divers intervalles pendant un séjour d'une semaine à l'étuve. Il ressort de la description que nous en avons faite que le microbe isolé par nous de la recto-sigmoïdite se distingue nettement des trois autres microbes pathogènes, du groupe pneumo-strepto-entérocoque, dont il se rapproche. Il se différencie dans tous les cas : 1° du pneumocoque, parce qu'il n'est ni capsulé, ni lancéolé, qu'il ne produit pas le phénomène de Neufeld et qu'il résiste à la chaleur; 2° du streptocoque, parce qu'il ne se présente jamais en chaînette, ne fermente pas le lévulose et résiste à la chaleur; 3° de l'entérocoque parce qu'il ne pousse pas sur bile et ne fait pas fermenter la mannite.

Ce diplocoque isolé chez le malade dont nous avons relaté l'observation a été retrouvé depuis, chez deux autres consultants de la Clinique des maladies des voies digestives du professeur Surmont, qui présentaient une recto-sigmoïdite à tendance hémorragique. L'un d'entre eux a pu être examiné tout au début de son affection. Ce malade, Polonais, se déplaçant fréquemment à la recherche d'un travail, n'a pu malheureusement être suivi. L'autre, femme de trente-deux ans, présentait une colite ulcéreuse purulente dont elle souffrait depuis près de trois ans et qui n'avait été améliorée par aucun traitement. La vaccination à l'aide de notre microbe, par voie sous-cutanée et par la bouche, a amené une amélioration très

importante qui nous permet d'envisager la guérison prochaine de cette malade.

AGGLUTINATIONS. — *a) Agglutinations et sérums agglutinants* : Le sérum des trois malades chez qui nous avons isolé ce diplocoque agglutine le germe au taux maximum de 1 p. 100 (il est à remarquer que ces malades étaient encore à la phase aiguë de leur affection au moment de cette recherche). Cette agglutination n'est pas spécifique : le sérum de malades atteints d'infections étrangères à la recto-sigmoïdite agglutine à des taux semblables (1 p. 50-1 p. 100).

b) Le sérum des lapins ayant reçu une seule inoculation de l'une de nos souches provenant soit directement d'un malade, soit d'un lapin expérimentalement infecté, agglutine le microbe à des taux minima de 1 p. 50, maxima de 1 p. 300.

Signalons que le sérum des animaux n'ayant présenté que des phénomènes morbides atténués agglutine beaucoup plus fortement que celui des lapins dont l'infection se traduit par des symptômes aigus et graves. Par exemple : un lapin D. 55, chez qui a été constatée une diarrhée profuse, qui a duré six mois, agglutine le germe à 1 p. 50, alors qu'un autre animal (D. 59), inoculé en même temps et de la même façon, mais chez qui aucun phénomène pathogène n'a été constaté, donne une agglutination de 1 p. 300. Ce fait doit être rapproché de celui que nous avons rapporté plus haut concernant le faible taux des agglutinines chez les malades en période aiguë de leur affection. Ces agglutinations peuvent être considérées comme spécifiques, des lapins neufs témoins ne présentant aucune agglutinine pour le diplocoque de la recto-sigmoïdite.

Des lapins que nous avons préparés par injections répétées de notre microbe nous ont donné un sérum agglutinant au taux de 1 p. 5.000. Ces lapins ont reçu, à des intervalles de huit jours, 10 injections sous-cutanées de 5 cent. cubes de microbes vivants, développés en bouillon ordinaire pendant quarante-huit heures, puis 2 cent. cubes dans les veines, d'une émulsion en sérum physiologique de microbes cultivés de la même façon, centrifugés, lavés et tués par ébullition. Le sérum agglutinant ainsi obtenu présente des co-agglutinines pour l'entérocoque au taux maximum de 1 p. 100.

Toutes nos agglutinations ont été pratiquées par la méthode macroscopique, avec des émulsions en sérum physiologique de microbes vivants.

Les recherches expérimentales que nous exposerons plus loin nous permettent de conclure à l'action pathogène du diplocoque isolé par nous. Sa recherche nous paraît intéressante dans les cas de recto-sigmoïdite hémorragique. Nous la pratiquons maintenant systématiquement.

La malade dont nous avons rapporté l'observation a été considérablement améliorée par l'administration d'un bactériophage isolé de ses selles; ce phage, donné par la bouche et injecté par voie sous-cutanée, a amené, en même temps que le vaccin, une diminution considérable des selles (4 par jour au maximum) et une rectoscopie de contrôle pratiquée cinq mois après le début du traitement nous montrait une muqueuse recto-sigmoïdienne ne présentant plus, jusqu'à 18 centimètres, que quelques rares plages hémorragiques.

g) COLITES ULCÉREUSES A ÉTIOLOGIE NON PRÉCISÉE.

Nous disions, au début de cet article, que l'examen bactériologique des frottis de muqueuses recto-sigmoïdiennes permettait de concevoir l'étiologie des colites ulcéreuses comme plus claire, sinon plus simple. En effet, il reste environ 10 p. 100 des colites ulcéreuses où l'étiologie ne peut être déterminée d'une façon nette.

Il existe des malades chez qui l'étude parasitologique et bactériologique, les examens cliniques systématiques de tout l'organisme, n'arrivent pas à mettre en évidence la cause pathogène nette de l'infection.

On a émis l'hypothèse d'un virus filtrant. Cette opinion, qui n'a pas été étayée jusqu'ici par des recherches expérimentales, ne doit pas être laissée de côté de prime abord. On sait, en effet, depuis les travaux d'Hauduroy, l'importance que tiennent les « formes filtrantes » des bactéries et surtout celles des germes intestinaux tel que le bacille de Shiga. Nous avons pu mettre en évidence la présence de formes filtrantes de notre diplocoque de la recto-sigmoïdite.

Voici le résultat de nos recherches :

Une ampoule de bactériophage (isolé des selles de notre malade et filtré sur bougie Chamberland L3) abandonnée à l'étuve vingt et un jours et ne donnant à ce moment sur milieux usuels aucun développement microbien, nous a fourni, après trois passages sur gélose lactosée tournesolée, des colonies de diplocoques présentant la même caractéristique que la souche initiale.

Nous avons pu de même mettre en évidence l'existence de ces formes filtrantes en employant des filtrats de cultures en bouillon de diplocoques de la recto-sigmoïdite, non bactériophagées. Une ampoule de filtrat abandonnée trois mois à la température du laboratoire et ne donnant à ce moment aucun développement microbien sur milieux usuels fournit, après six passages sur gélose tournesolée, une culture caractéristique du diplocoque de la recto-sigmoïdite.

On sait, d'autre part, que le rôle d'un virus filtrant a été démontré dans une infection intestinale massive du porc, le « Hog-Choléra ». Son action est facilitée par les microbes d'accompagnement tel l'*Aertryck*. N'en est-il pas de même dans les colites ulcéreuses d'étiologie obscure? Il semble que cette hypothèse mériterait d'être confirmée par des observations et des expériences; nous nous proposons de poursuivre ultérieurement cette question.

II. — Étude expérimentale.

a) COLITES ULCÉREUSES A BACILLES DYSENTÉRIQUES.

Nous avons cherché, par injection de souches de bacilles dysentériques isolés chez des malades, à déterminer chez le lapin des lésions de colites ulcéreuses. Ces recherches ne nous ont donné que des résultats négatifs.

Un lapin de 2.500 grammes reçoit dans la veine marginale de l'oreille 1 cent. cube $3/4$ de culture de quarante-huit heures en bouillon ordinaire de bacilles de Hiss, provenant d'un malade dont nous avons rapporté l'observation. Le seul symptôme noté est un amaigrissement rapide de près de 500 grammes en six jours.

L'injection intraveineuse d'autres bacilles dysentériques isolés dans les mêmes conditions ne nous ont pas fourni non plus l'occasion de noter des lésions de colites chez les animaux inoculés.

b) COLITES ULCÉREUSES A SALMONELLA.

Inoculés seuls, au lapin, les bacilles de Morgan provenant de lésions colitiques ne déterminent pas toujours, comme nous avons pu le constater (et cela contrairement à ce qui est signalé dans les traités classiques pour ce germe), des lésions considérables, hémorragiques, de l'intestin grêle (plaques de Peyer hémorragiques).

Dans le matériel de prélèvement provenant de lésions coliques, il est possible que nous trouvions des souches moins virulentes que celles isolées au cours d'épidémies d'entérites à bacilles de Morgan. Inoculées au lapin, en même temps que l'entérocoque, ces souches, au contraire, déterminent des lésions graves et généralisées que nous exposerons un peu plus loin. Voici le résumé de quelques-unes de nos expériences.

a) Inoculation du bacille de Morgan seul.

Un lapin D. 7 de 2.100 grammes reçoit en deux fois dans la veine marginale de l'oreille 6 cent. cubes d'une culture de quarante-huit heures en bouillon ordinaire du bacille de Morgan provenant du malade dont nous avons relaté l'observation. Un mois plus tard, ce lapin meurt dans un état cachectique (1.400 grammes). A l'autopsie, on constate une maigreur extrême, le tissu adipeux a complètement disparu, il n'y a rien à signaler du côté du côlon, pas de plaques de Peyer, pas d'hypertrophie des ganglions mésentériques. La rate est énorme, sans abcès. Les autres organes sont sains. Lesensemencements pratiqués sont restés stériles.

On le voit, le bacille de Morgan dans ces conditions n'a déterminé qu'une cachexie générale de l'animal, due probablement à une toxémie.

b) *Inoculation du bacille de Morgan en association avec l'entérocoque.*

Un lapin D. 52 de 2.600 grammes reçoit dans la veine marginale de l'oreille 2 cent. cubes d'une culture de quarante-huit heures en bouillon ordinaire d'un bacille de Morgan provenant d'une colite. L'animal est encore en vie et en bon état trente jours après l'injection.

Un lapin D. 51 de 2.500 grammes reçoit dans la veine marginale de l'oreille 2 cent. cubes d'une culture de quarante-huit heures d'entérocoques en bouillon. Le résultat est négatif comme pour le lapin D. 52.

Un lapin D. 50 de 2.400 grammes reçoit en même temps dans la veine marginale de l'oreille 2 cent. cubes de chacune des cultures de bacilles de Morgan et d'entérocoques employées pour les deux lapins précédents. Dix-huit heures après l'injection, l'animal meurt. A l'autopsie, on note des suffusions hémorragiques dans le tissu adipeux, de la péritonite hémorragique (15 cent. cubes de liquide hémorragique et purulent). Dans tout le grêle, on observe une diarrhée muco-purulente avec de nombreuses plaques de Peyer volumineuses. On constate aussi de gros ganglions mésentériques en chapelet, hémorragiques; la rate est énorme, noirâtre, friable; il y a de la dégénérescence hépatique massive; le sang du cœur présente une hémolyse spontanée. Dans le sang du cœur de même que dans le liquide de la péritonite, dans la rate, le foie, les ganglions mésentériques, on retrouve l'association des bacilles de Morgan-entérocoques.

Cette expérience est particulièrement démonstrative et d'un intérêt pratique important. Si l'on désire entreprendre un traitement vaccinal chez un sujet présentant une semblable association au niveau de ses lésions intestinales, il faudra s'attaquer aux deux germes en même temps, sous peine d'insuccès. On pourra, d'ailleurs, se rendre compte du degré de sensibilisation du sujet à l'entérocoque en pratiquant chez lui une intradermo-réaction avec l'entérocoque isolé. Nous renvoyons pour tous les détails à la thèse de Charles Gernez et à celle de Pierre Razemon (de Lille) qui traitent complètement cette question.

Le phénomène d'exaltation de virulence du bacille de Morgan par l'entérocoque étant mis à part, il nous a été impossible de déterminer chez le lapin des lésions de colites ulcéreuses par injections de souches de *Salmonella* isolées chez nos malades.

c) COLITES ULCÉREUSES A FLORE BACTÉRIOLOGIQUE BANALE.

L'étude expérimentale des colites à microbes banaux tels ceux que nous avons indiqués précédemment a été peu pratiquée jusqu'ici. Il semble que les germes isolés dans ces cas aient un véritable tactisme pour la muqueuse intestinale, où ils sont capables de déterminer des lésions de gravité variable, allant de la simple colite muqueuse à la colite ulcéreuse.

Des observations que nous avons relevées dans la bibliographie médicale viennent à l'appui de cette opinion. II. Kechichian, dans la *Revue de Pathologie comparée*, a publié un travail sur les colites expérimentales à bacilles pyocyaniques.

Cet auteur avait observé, en Egypte, une diarrhée souvent mortelle caractérisée par des selles vert épinard, striées de sang. On y trouvait de la pyocyanine en grande quantité. En même temps, l'examen bactériologique permettait d'isoler du bacille pyocyanique. Ces souches inoculées à des lapins par voie buccale ou par voie intraveineuse déterminaient à l'autopsie des lésions de congestion diffuse du grêle qui était rempli d'une diarrhée verdâtre où l'on isolait à nouveau du bacille pyocyanique en culture presque pure. La vaccination des animaux contre ce germe leur assurait une solide immunité contre l'infection expérimentale.

Des faits de ce genre nous incitent à ne jamais négliger les recherches étiologiques concernant ces microbes que l'on n'était pas habitué à considérer jusque aujourd'hui comme étant responsables d'un rôle certain dans les colites graves.

d) COLITES ULCÉREUSES A DIPLO-STREPTOCOQUE DE BARGEN.

Bargen est arrivé par inoculation de la souche du diplo-streptocoque qui porte son nom à reproduire chez divers animaux de laboratoire des lésions typiques de colites ulcéreuses. Il a ainsi le mérite d'avoir pu, le premier, déterminer expérimenta-

lement une affection de l'animal comparable à celle de l'homme. Les inoculations ont surtout été pratiquées chez des lapins ; elles produisent une diarrhée sanglante, profuse, devenant de plus en plus grave, déterminant une cachexie profonde et entraînant la mort.

A l'autopsie, on note une congestion diffuse du côlon avec, çà et là, quelques ulcérations pouvant être assez profondes pour déterminer des perforations. La présence du diplo-streptocoque y est mise en évidence par des coupes selon le procédé de Rosenow et par la culture (fig. 4).

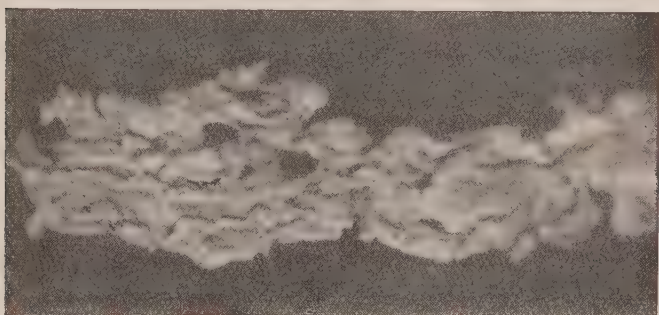


FIG. 4. — Colon perforé (d'après Bargen).

Bargen a insisté, avec juste raison, sur la présence en grosse quantité et d'une façon très précoce, du microbe au niveau des ganglions mésentériques. Il a, d'ailleurs, employé cette particularité pour faciliter l'isolement et le diagnostic bactériologique de son diplo-streptocoque. Nous y reviendrons un peu plus loin.

Le lapin représente en quelque sorte l'animal réactif pour le diplo-streptocoque. En se fondant sur ce caractère important, Bargen a préconisé, en vue de l'isolement du germe identifié par lui, une méthode comprenant des passages par le lapin ; nous exposons ici cette méthode d'une façon complète (telle qu'elle nous a été indiquée par G. F. Fasting, de la « Mayo Clinic », lors de son passage à l'Institut Pasteur de Lille).

Au moment de la rectoscopie on touche la profondeur de la lésion ulcéreuse avec deux tampons qui sont mis immédiate-

ment en milieux de Locke modifié (1). Ces tampons sont transportés le plus rapidement possible au laboratoire; on passe successivement chacun d'entre eux dans 4 tubes de bouillon glucosé cérébrosé. On a ainsi deux séries de 4 tubes, l'une est portée directement à l'étuve à 37°, l'autre est chauffée à 55° durant quarante-cinq minutes, puis mise à l'étuve.

Au bout de vingt-quatre heures, on fait un prélèvement dans chacun des huit tubes et une coloration au Gram. On note le tube où se retrouvent en plus grande quantité des diplocoques Gram-positif. A égalité de développement, on choisit ce tube parmi ceux qui ont été chauffés. La presque totalité du tube ainsi choisi (soit 5 cent. cubes environ) est injectée directement dans la veine marginale de l'oreille d'un lapin; le restant sert à pratiquer un isolement sur une plaque de gélose-sang en boîte de Pétri. Cette culture est examinée vingt-quatre heures après. On prélève les colonies les plus petites que l'on repique directement en bouillon glucosé cérébrosé. Après quatre heures d'étuve, ce tube de bouillon sert à faire de nouveaux isollements en gélose-sang. Son contenu, si un développement abondant en diplo-streptocoques y a été constaté, est injecté en totalité dans la veine marginale de l'oreille d'un second lapin. Les isollements sont continués à partir des colonies obtenues sur la dernière gélose-sang, et le diplocoque est identifié.

Les deux lapins sont sacrifiés vingt-quatre heures après l'injection. On note les lésions obtenues et on recueille aseptiquement les ganglions mésentériques qui sont broyés et ensemenés en bouillon glucosé cérébrosé. Dans le cas de présence de diplo-streptocoques au niveau des lésions ulcéreuses du malade examiné, on retrouve ce germe dans ces cultures et le plus souvent à l'état de pureté.

Nous n'avons pas encore étudié complètement la production de lésions expérimentales de colites ulcéreuses par le diplo-

1.

Eau distillée, en centimètres cubes.	5.000
Chlorure de sodium, en grammes.	45
Chlorure de potassium, en grammes.	2,1
Chlorure de calcium, en grammes.	1,2
Bicarbonate de soude, en grammes.	1,5
Gélatine, en grammes.	10

Mélanger, filtrer, répartir 2 cent. cubes par tube et stériliser à l'autoclave.

streptocoque de Bergen, bien que nous ayons pu l'isoler deux fois chez des malades de notre service en employant strictement la technique exposée ci-dessus.

e) COLITES ULCÉREUSES A DIPLOCOQUE DE LA RECTO-SIGMOÏDITE
ISOLÉ PAR NOUS.

ETUDE EXPÉRIMENTALE. — Nos expériences ont été pratiquées chez des cobayes et des lapins.

Chez le cobaye, nos résultats ont été négatifs : l'injection intraveineuse, intrapéritonéale, sous-cutanée, d'une culture de quarante-huit heures en bouillon-albumine de diplocoque de la recto-sigmoïdite, n'a entraîné chez eux aucun phénomène pathologique.

Chez les lapins, au contraire, les résultats ont été particulièrement intéressants. Nous rapporterons ici l'observation de quelques-uns de ces animaux.

Lapin D. 55. — Lapin de 725 grammes, reçoit dans la veine marginale de l'oreille 1 cent. cube d'une émulsion en sérum physiologique de 10 milliards environ de microbes lavés, provenant d'une culture en bouillon de quarante-huit heures, faite avec notre souche « Homme » isolée de la malade objet de l'observation du chapitre précédent. Treize jours après l'inoculation, on constate l'apparition de diarrhée avec glaires compactes, blanchâtres, striées de sang. A l'écouvillonnage, on ramène un peu de mucus sanglant dans lequel on isole le diplocoque injecté. Les premières tentatives de culture sont restées vaines par suite de l'envahissement par un proteus de la flore intestinale de ce lapin. Le sérum de l'animal à cette date agglutine à des taux très faibles le germe inoculé. Cinq mois après l'inoculation, la diarrhée persiste. On pratique à ce moment une radiographie par lavement opaque qui met en évidence une zone floue, mal injectable, au niveau du sigmoïde (fig. 5 et 6). A cette date, on fait au lapin une laparotomie après anesthésie à l'éther. On trouve un intestin très fortement congestionné dans sa totalité. On prélève aseptiquement un ganglion mésentérique, hémorragique. Ce ganglion est ensemencé, après broyage, en bouillon glucosé cérébrósé et en bouillon-albumine. On observe un développement abondant du diplocoque de la recto-sigmoïdite. Six mois après l'inoculation, l'état général du lapin devenant de plus en plus mauvais, on le sacrifie. A l'autopsie, on trouve tout le colon terminal énormément distendu par des gaz. Au niveau du sigmoïde, on voit deux gros épaississements cicatriciels avec dépoli des muqueuses. Les ganglions mésentériques sont fortement hémorragiques, hypertrophiés. Les capsules surrénales sont petites et très pâles. Rien à signaler pour les autres organes.

Chez ce lapin, comme on le voit, l'injection de diplocoque

isolé par nous a reproduit une colite d'abord hémorragique, puis évoluant vers la chronicité avec sténose évolutive du sigmoïde.



FIG. 5. — Image radiographique du colon d'un lapin sain, obtenue par lavement opaque, sans lavement évacuateur préparant. (Radiographies dues à l'obligeance du Docteur Tiprez.)

Lapin A.82. — Ce lapin avait été préalablement préparé en vue de fournir un sérum agglutinant. Il avait reçu à cet effet, à raison d'une par semaine, 6 injections sous-cutanées de 5 cent. cubes d'une culture en bouillon-albumine de cinq jours du diplocoque de la recto-sigmoïdite. Le sérum agglutinait, huit jours après la dernière injection, à 1 p. 600. Il avait alors reçu dans la veine marginale de l'oreille 2 cent. cubes d'une dilution en sérum physio-

logique de microbes lavés et tués par ébullition correspondant environ à 20 milliards de corps microbiens. Le pouvoir agglutinant du sérum était monté rapidement à 1 p. 5.000. Mais en même temps, comme si cette injection intraveineuse de corps microbiens morts avait déterminé un réveil brutal du pouvoir virulent des microbes vivants injectés sous la peau dans les inoculations précédentes, on avait vu apparaître une diarrhée abondante, fétide, avec prostration, anorexie, et le lapin mourait rapidement.



FIG. 6. — Image radiographique de colite ulcéreuse du lapin, obtenue par lavement opaque, après lavement évacuateur préparant.

Nous avons relevé à l'autopsie une maigreur extrême avec déshydratation de tous les tissus ; un côlon énormément dilaté jusqu'au sigmoïde inclus (plus de 20 fois le diamètre d'un côlon de lapin de même taille) ; la paroi intestinale était réduite à une membrane de très faible épaisseur et très friable. Le péritoine présentait des adhérences multiples réunissant le côlon à de nombreuses anses grêles afférentes. Tous les ganglions mésentériques étaient hémorragiques.

L'observation de ce lapin est surtout intéressante en ce qui concerne les complications articulaires et osseuses de la recto-

sigmoïdite hémorragique. Au moment de la mort de l'animal, en effet, on avait noté depuis quelque temps une ankylose des articulations du membre postérieur droit. A l'autopsie, on trouve dans cette région un gros œdème sous-cutané, jaune citrin, périarticulaire. La patte droite est en extension avec impossibilité de flexion complète. Les muscles sont œdématiés, la coupe présente des suffusions hémorragiques multiples. La moelle des os de ce membre est très fortement hémorragique elle aussi. L'examen anatomo-pathologique des ganglions mésentériques et de la moelle osseuse a permis de mettre en évidence la présence de nombreux diplocoques prenant le Gram. Les ganglions présentaient, en outre, un gros foyer nécrotique.

Ces lésions périarticulaires et articulaires ont été retrouvées d'ailleurs chez quelques autres lapins infectés expérimentalement par le diplocoque de la recto-sigmoïdite.

Lapin D. 41 (900 grammes) reçoit dans la veine marginale de l'oreille 1 cent. cube d'une émulsion en sérum physiologique d'une culture en bouillon de diplocoques de la recto-sigmoïdite centrifugée et lavée. Quinze jours après, on voit apparaître une forte diarrhée muqueuse qui persiste cinq à six jours. A ce moment, le lapin est sacrifié. On trouve une grosse masse de ganglions sous-hépatiques purulents. A 25 centimètres du cæcum, sur le côlon, on aperçoit une grosse congestion de la muqueuse localisée sur deux travers de doigt. A cet endroit, les plis muqueux sont épaissis, dépolis, avec, à certains endroits, des petits piquetés hémorragiques. La congestion de cette portion colique s'étend à toute la profondeur de la paroi. On retrouve le diplocoque dans les ganglions sous-hépatiques broyés et ensemencés en bouillon glucosé cérébrésé.

La rapidité avec laquelle notre diplocoque détermine des lésions hémorragiques intestinales peut être grande. C'est le cas du lapin D. 21 qui, vingt-quatre heures après une injection de ganglions pathologiques contenant du diplocoque de la recto-sigmoïdite, a présenté sur une étendue de près de 40 centimètres des suffusions hémorragiques en piquetés sur toute la surface de la portion de l'intestin grêle située à deux travers de doigt au-dessous du pylore.

Notre diplocoque semble bien, comme le diplo-streptocoque de Bargaen, avoir une affinité particulière pour la muqueuse intestinale, colique surtout, et y déterminer des lésions de colite hémorragique identiques à celles rencontrées chez l'homme.

Colites parasitaires.

La question des colites parasitaires, quoiqu'elle soit en dehors de notre sujet, mérite néanmoins d'attirer l'attention. Nous avons souvent remarqué dans les antécédents des colitiques chroniques des affections parasitaires, qui, même guéries, avaient probablement ouvert des voies d'accès à des germes infectieux ultérieurs.

A. COLITES A *Entamœba dysenterix*. DYSENTERIE AMIBIENNE. — L'amibe dysentérique détermine au niveau du côlon une éruption de petites saillies désignées sous le nom de « psorentéries ». Elles peuvent d'autre part, dans les formes graves, produire des petites ulcérations superficielles ou des ulcérations très vastes, confluentes, à bords festonnés, qui ultérieurement se cicatriseront d'une façon tout à fait particulière : « cicatrices étoilées » ou « difformes » dans les cas de grosses ulcérations.

La recherche du parasite responsable se fait dans les selles d'une façon générale : formes végétatives ou kystes.

On a récemment attiré l'attention sur la présence, avec une fréquence beaucoup plus grande, de l'amibe dysentérique dans les prélèvements effectués par rectoscopie au niveau des ulcérations elles-mêmes. Ce procédé nous paraît recommandable en particulier dans les formes subaiguës ou chroniques de cette maladie.

B. AUTRES PROTOZOAIRES. — La majorité des auteurs s'accordent à considérer que l'*Amœba coli*, les *Lamblia*, les *Trichomonas* sont incapables de déterminer des lésions graves du côlon. Il n'en est pas ainsi pour le *Balantidium coli* qui détermine des ulcérations graves, souvent mortelles, parce que rebelles au traitement, comme le démontre la statistique de Strong. Nous nous permettons d'insister sur le rôle des protozoaires signalés comme bénins au cours des colites ulcéreuses par germes microbiens.

Quelques-uns de nos malades n'ont vu disparaître leurs colites par traitement vaccinal que du jour où nous sommes

arrivés en même temps à les débarrasser de leurs parasites intestinaux. Nous en dirons autant en ce qui concerne les ascaris, les trichocéphales et autres vers intestinaux.

C. SPIRILLOSES INTESTINALES. — La question de la spirillose intestinale est restée longtemps dans l'ombre. Il est hors de doute qu'elle est d'une grosse importance. Deux variétés d'infections spirillaires sont à envisager :

a) *L'Association fuso-spirillaire.* — On retrouve au niveau de l'ulcération colique cette association caractéristique en même temps qu'au niveau du rhino-pharynx du sujet infecté.

b) *La spirillose intestinale vraie*, décrite pour la première fois par Le Dantec. L'un d'entre nous a exposé, d'autre part, les résultats de ses recherches à ce sujet. Dans 57 cas de colites graves, nous avons trouvé des spirilles 14 fois. Ils étaient associés 5 fois à d'autres parasites; 2 fois avec *Entamæba dysenteriae*, 2 fois avec *Entamæba coli*, 1 fois avec un trichocéphale. Dans 14 cas, 11 fois il ne nous est pas apparu que les spirilles associés à d'autres germes dont l'action pathogène est complètement démontrée aient joué un rôle prédominant dans l'étiologie de la colite. Deux fois, ce rôle pouvait être suspecté avec une quasi certitude. Dans un cas de colite ulcéreuse, où les spirilles étaient très nombreux, tous les traitements ayant échoué, l'injection intraveineuse de novarsénobenzol amena la guérison et en même temps la disparition des spirilles. Pour ce cas, nous sommes en droit d'admettre que les spirilles étaient des agents responsables de la colite. Cette éventualité nous incite à les rechercher systématiquement. Notre procédé de recherche sera exposé à la fin de cet article.

Technique des recherches.

Voici les procédés techniques que nous avons employés durant nos recherches sur l'étiologie des colites ulcéreuses.

Il est certaines précautions indispensables à respecter pour mener à bien ces travaux de détermination de l'agent pathogène des colites ulcéreuses. Nous les passerons successivement en revue.

Nous laissons de côté, les examens cliniques ou radiologiques divers qui permettront de faire le diagnostic des colites ulcéreuses.

I. *Prélèvement* : Il est indispensable de pratiquer d'abord une rectoscopie, qui permettra d'effectuer le prélèvement au niveau des zones lésées du recto-sigmoïde. Pour cela :

Le malade est purgé la veille de l'examen. Il prend deux lavements d'eau bouillie tiède, un, la veille au soir, et un le matin de la rectoscopie. Celle-ci est pratiquée entre 9 et 10 heures du matin, le malade étant resté à jeun depuis la veille au soir et ayant absorbé une pilule d'extrait d'opium ou de belladone après le lavement du matin. Nous préparons des écouvillons à tige métallique de 35 centimètres de long, stérilisés et placés dans de longs tubes de verre.

La rectoscopie est faite avec des instruments stériles et le prélèvement est effectué dans les meilleures conditions possibles d'asepsie.

Quand l'examen montre la présence de fèces liquides ou de gros muco-glaïres, on en débarrasse la muqueuse par lavage au sérum physiologique. Si les mucosités sont abondantes, on s'en débarrasse à l'aide d'un aspirateur.

L'écouvillon est porté sur la zone lésée, que l'on frotte énergiquement. Il est aussitôt placé dans un tube de Locke modifié dont nous avons donné, par ailleurs, la composition. On a intérêt à ensemençer deux écouvillons en même temps, surtout lorsque l'on veut pratiquer la recherche du diplocoque de Bargaen. Les produits de prélèvements sont transportés le plus tôt possible au laboratoire.

II. *Examen des produits de prélèvement* : L'un des écouvillons est frotté directement sur 3 lames porte-objet. L'une d'elle est colorée au Gram-Fuchsine : on aura ainsi une idée d'ensemble de la flore générale du recto-sigmoïde.

La seconde est colorée au Fontana-Tribondeau, ou au Ziehl après mordantage au tanin. On recherche les spirilles sur cette deuxième lame.

La dernière est colorée à l'hématoxyline au fer-éosine. On y recherche les amibes, les kystes de protozoaires. Cette lame est fixée préalablement, au Bouin de préférence.

L'écouvillon restant est ensemençé :

a) L'écouvillon lui-même est passé successivement dans les tubes de bouillon glucosé cérébrosé, selon la technique de Bergen, que nous avons indiquée d'autre part. Voici le mode de préparation de ce milieu :

Eau de robinet, en centimètres cubes	1.000
Peptone, en grammes	10
Extrait de Liebig, en grammes,	3
Chlorure de sodium, en grammes.	5
Glucose, en grammes	2
Indicateur d'Andrade, en centimètres cubes.	10

Mélanger l'eau, la peptone, le sel et l'extrait de Liebig. Dissoudre en faisant bouillir quelques minutes. Amener à pH 7,2. Faire bouillir à nouveau dix minutes pour la précipitation des phosphates-terreux. Filtrer. Ajouter l'indicateur d'Andrade et le glucose. Le liquide doit être viré si son pH est bon. Employer de grands tubes de 20 centimètres de long sur 18 centimètres de diamètre. Mettre 10 cent. cubes de liquide dans chaque tube.

Dans le fond de chacun d'eux, placer un petit morceau de marbre blanc.

Prendre un cerveau de bœuf ou de mouton; le mettre à la glacière pour le durcir, enlever la plus grande partie possible des vaisseaux et des méninges. Couper des petits cubes de 1 centimètre de côté de ce cerveau et en mettre un par tube.

Mettre à l'autoclave à 115° pendant vingt minutes, en ayant soin de ne fermer le robinet de l'autoclave que dix minutes au moins après le début de l'ébullition.

Avant l'ensemencement mettre les tubes au bain-marie à 100° de façon à chasser les gaz.

Puis laisser refroidir. La paraffine est coulée à la surface du liquide après l'ensemencement. On emploie de préférence des paraffines dont le point de fusion est de 45° et qui ont été préalablement réparties en tubes stérilisés à l'autoclave.

Préparation de l'indicateur d'Andrade :

Fuchsine acide, en grammes	0,5
Eau distillée, en centimètres cubes	100

b) Le liquide restant dans le tube est lui-même ensemencé sur les divers milieux aérobies et anaérobies suivants :

Bouillon ordinaire ;

Gélose lactosée tournesolée ;

Gélose-albumine ou gélose-vitamine de Legroux ;

Gélose de Veillon ;

Tous ces milieux sont portés à l'étuve à 37° et regardés après douze heures, vingt-quatre heures, quarante-huit heures et soixante-douze heures.

Les isolements sont alors pratiqués.

Après douze heures, on a intérêt à isoler immédiatement les colonies bleutées sur gélose lactosée tournesolée. En cas de développement abondant du *B. coli*, on voit, en effet, la gélose prendre une teinte uniformément rouge, et les colonies ne fermentant pas la lactose deviennent alors impossibles à repérer.

Après vingt-quatre heures, on pourra généralement repiquer la majorité des germes se développant normalement en milieux artificiels : staphylocoques, entérocoques, streptocoques, etc.

Comme nous l'avons déjà dit, il est cependant indispensable de laisser les milieux ensemencés à l'étuve à 37° durant trois jours au moins, le diplocoque de la recto-sigmoïdite isolé par nous, n'apparaissant bien, en culture, qu'au bout de ce temps. Toutes ces colonies, à développement difficile, doivent être reportées immédiatement sur milieux à base de sang.

Il est indispensable de repiquer le plus de colonies possible.

Identification des germes isolés : Les germes intestinaux sont excessivement polymorphes. C'est le cas surtout de l'entérocoque. Il arrive fréquemment de voir ce microbe prendre, au début de son développement en milieux artificiels, des formes variées : c'est le cas d'une de nos souches, qui présentait, avec une grande facilité, des formes bacillaires ou filamenteuses, lors des premiers passages en gélose ou en bouillon ordinaire.

Il faut, pour cette raison, faire plusieurs passages, avant d'identifier. En effet, ce polymorphisme dans la morphologie s'accompagne parfois de caractères biologiques différents de ceux de la souche type. Par exemple, il est assez fréquent de rencontrer du *B. coli* qui ne fermente pas le lactose, lors de la première culture. Cette fermentation n'apparaît qu'au second ou au troisième passage en milieux artificiels.

Compte tenu de cette précaution, les méthodes d'identification que nous employons sont les méthodes classiques (fermentations sucrées, etc.)

Il est toujours intéressant de compléter cette identification, quand il est possible, par l'agglutination du germe étudié par un sérum spécifique.

Ces agglutinations sont indispensables, quand il s'agit du diplo-streptocoque de Bargaen.

Elles sont même très intéressantes pour le diagnostic du diplocoque de la recto-sigmoïdite isolé par nous. (Nous tenons à la disposition de ceux qui nous en feront la demande le sérum agglutinant.)

Lorsqu'un germe pathogène est isolé, il est utile de préciser son rôle dans l'étiologie de la colite ulcéreuse étudiée :

A. Pour les *B. coli*, B. de Morgan, B. de Castellani, etc., on recherchera systématiquement ces germes dans les urines en même temps que dans les écouillons portant les prélèvements recto-sigmoïdiens.

B. Examen bactériologique de la cavité bucco-pharyngée. Les auteurs américains ont insisté sur le rôle des foyers dentaires, amygdaliens, pharyngés, dans l'étiologie des colites. Il faut, dans tous les cas, pratiquer un examen bactériologique de ces foyers, quand ils existent. On y recherchera :

a) Les spirilles;

b) Les divers germes tels que le streptocoque, le pneumobacille, le pyocyanique, qu'il est fréquent de retrouver dans la cavité buccale et dans les lésions ulcéreuses du côlon, dans les cas d'infections descendantes, d'origine rhino-pharyngée.

C. Pour l'entérocoque, on pratiquera l'intradermo-réaction, comme nous l'avons déjà dit plus haut. On fera de même pour le staphylocoque.

D. Le sérum du malade sera étudié au point de vue de ses propriétés agglutinantes pour le germe isolé.

E. Enfin, il faut, dans le doute, se rendre compte des propriétés de la souche isolée, par l'inoculation aux animaux de laboratoire. Le lapin jeune est l'animal de choix pour ces expériences.

Enfin, nous ne faisons que signaler ici le rôle intéressant de la vaccination chez l'homme.

Lorsqu'un vaccin préparé avec un germe suspect d'être à l'origine de la colite, amène une guérison ou une grosse amélioration de la maladie, nous pensons que ce germe est bien la cause de cette colite.

Examen des selles du malade.

Si nous avons rejeté, pour les raisons signalées, la recherche des microbes pathogènes des colites dans les fèces, il n'en reste pas moins que l'examen de celles-ci est indispensable dans toute colite.

Deux recherches doivent être pratiquées :

- a) La recherche des amibes et des kystes ;
- b) La recherche des spirilles.

On les pratiquera d'ailleurs en même temps dans les frottis de muqueuses.

Les formes végétatives d'amibes sont recherchées sur des selles fraîches, les kystes sur les selles d'émission plus éloignée. Ces derniers nécessitent pour leur mise en évidence un enrichissement des fèces. Pour notre part, nous pratiquons le procédé de Carles et Barthélémy, initial, sans modification de la technique. Dans toutes les recherches de kystes de protozoaires, il faut se rappeler l'existence des « phases négatives » durant lesquelles ces organismes ne se rencontrent pas dans les déjections. Ces phases peuvent atteindre des durées de huit jours. On les évitera en pratiquant l'examen des selles recueillies selon le procédé de Deschiens : celui-ci consiste à recueillir dans un vase contenant une solution de formol à 40 p. 100, une cuillère à soupe de chaque selle émise durant huit jours. Un enrichissement selon le procédé de Carles et Barthélémy est pratiqué sur l'ensemble.

La recherche des spirilles est faite de la façon suivante : dès leur émission, les selles sont diluées ; on les émulsionne dans un peu de sérum physiologique tiédi (à 37°-40° environ). On filtre sur tarlatane ou sur tamis de soie, pour rejeter les gros débris des fèces. On étale sur lames une goutte de filtrat, comme on le fait pour l'examen cytologique du sang.

On colore une lame au Fontana-Tribondeau, l'autre au Ziehl, après léger mordantage au tanin.

Enfin, nous nous permettons d'appeler l'attention, bien que cette question sorte de notre sujet, sur la nécessité de l'étude

de la digestion gastro-intestinale dans les colites. Deux examens sont nécessaires pour y parvenir :

A. Le chimisme gastrique après tubage gastrique ;

B. L'examen coprologique après régime d'épreuve intestinal, tel le régime de Schmidt, employé à la Clinique des maladies des voies digestives depuis dix ans, avec succès.

L'achylie est un facteur favorisant très important dans les colites ulcéreuses, en même temps que dans les simples parasitoses intestinales. Il en est de même des fermentations ou des putréfactions intestinales.

L'ensemble des recherches que nous venons d'exposer est nécessaire pour pratiquer utilement l'étude de l'étiologie des colites ulcéreuses. Cette étude paraîtra peut-être longue, compliquée. Elle aura pourtant pour résultat certain d'amener à une connaissance nette, le plus souvent, des causes pathogènes d'une colite et ainsi de remédier par une thérapeutique plus appropriée à cette maladie qui, jusqu'ici, est souvent d'une amélioration difficile ou impossible.

Conclusions.

1° Le rôle de l'infection dans l'étiologie des colites chroniques ulcéreuses est prépondérant. Le parasitisme intestinal ne possède, en général, qu'une action secondaire, il ne fait, dans la plupart des cas, que préparer la voie à l'infection microbienne.

2° L'opinion des auteurs qui voient dans le diplocoque de Bargaen l'agent unique de colites chroniques et celle des bactériologistes qui attribuent à tous les germes isolés dans cette affection un rôle équivalent sont l'une et l'autre trop exclusives.

3° Le microbe de Bargaen se distingue certainement de beaucoup d'autres germes isolés dans les colites par des caractères spéciaux ; on peut le rencontrer à l'état de pureté dans les lésions humaines, on peut reproduire avec lui expérimentalement la maladie chez le lapin.

Mais il n'est pas spécifique de toutes les colites ulcéreuses puisque nous avons isolé pour notre part un diplocoque voisin

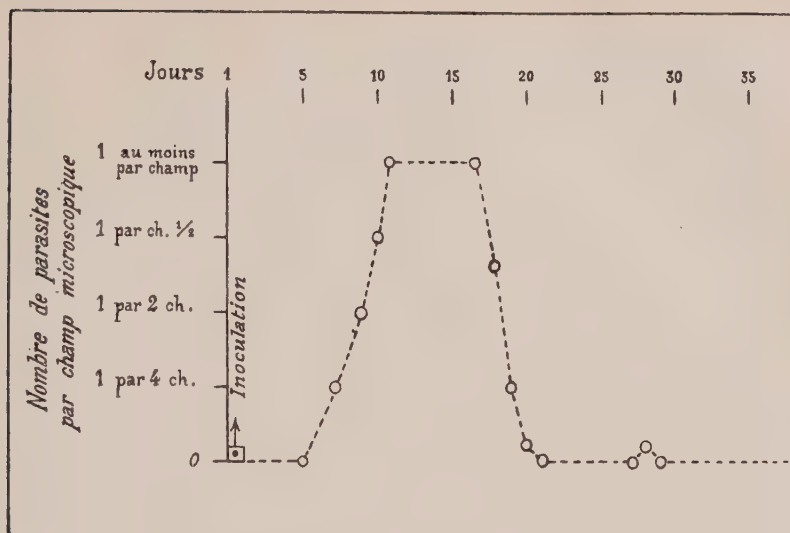


FIG. 1. — Type de l'infection moyenne à *Plasmodium relictum*. Parasites d'un canari infecté.

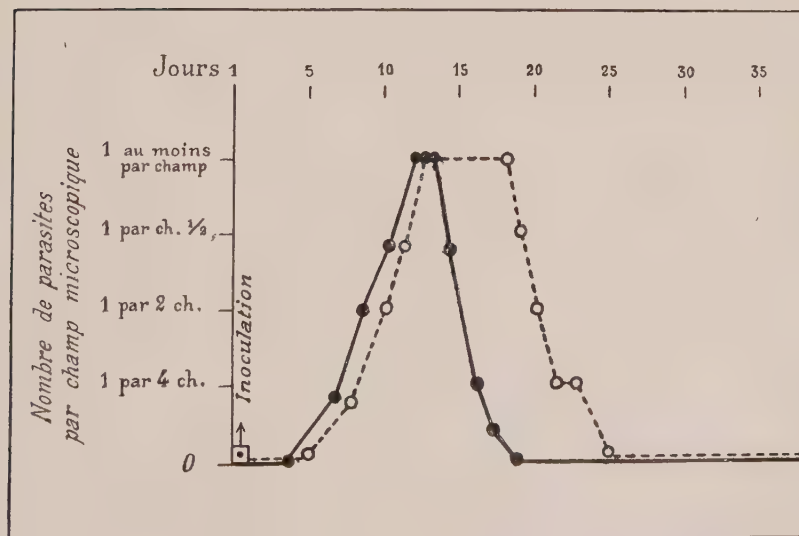


FIG. 2. — Guérison par le « 710 ».

Trait plein : parasites du canari A infecté de *Plasmodium* et traité par le « 710 » le douzième et le treizième jour.

Trait pointillé : parasites du canari B infecté de *Plasmodium* et non traité.

Ces figures font suite à l'article de MM. Edm. et Et. Sergent, A. Catanei, F. Trenszt et A. Sergent paru dans le numéro précédent de ces *Annales*, page 57.

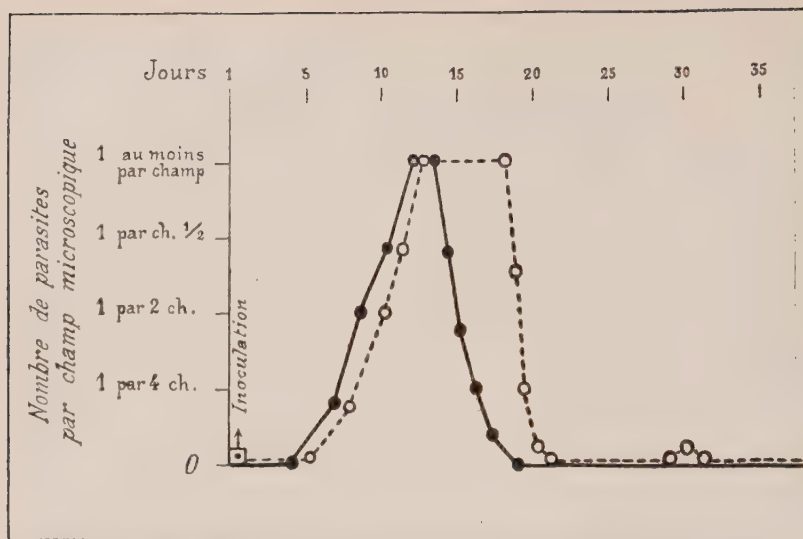


FIG. 3. — Guérison par la quinine.

Trait plein : parasites du canari A infecté de *Plasmodium* et traité par la quinine le douzième et le treizième jour.

Trait pointillé : parasites du canari B infecté de *Plasmodium* et non traité.

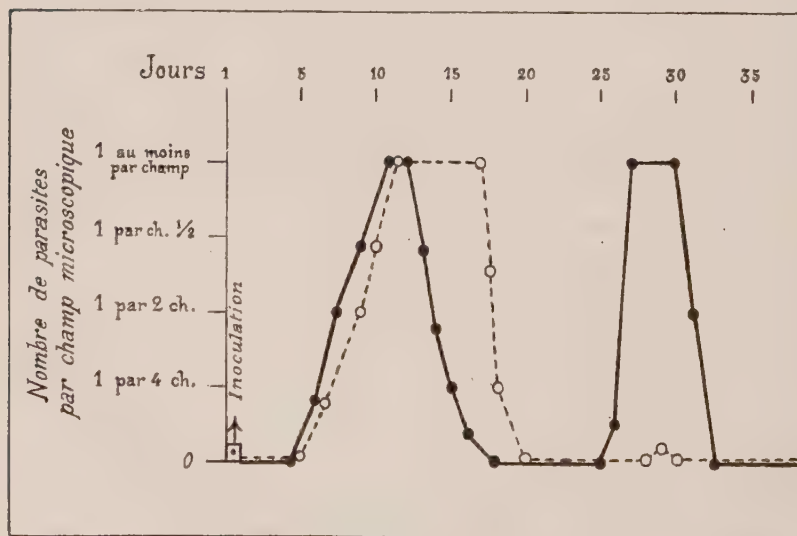


FIG. 4. — Accès retardé par le « 710 ».

Trait plein : parasites du canari A infecté de *Plasmodium* et traité par le « 710 » le onzième et le douzième jour.

Trait pointillé : parasites du canari B infecté de *Plasmodium* et non traité.

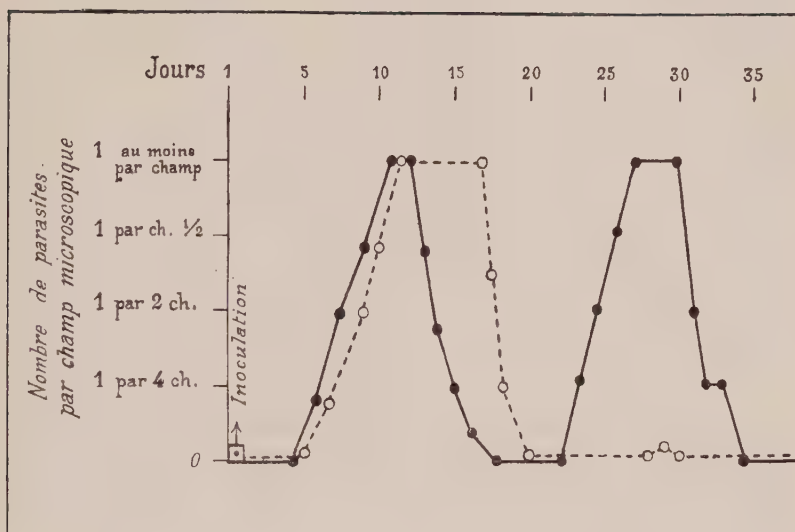


FIG. 5. — Accès retardé par la quinine.

Trait plein : parasites du canari A infecté de *Plasmodium* et traité par la quinine le onzième et le douzième jour.

Trait pointillé : parasites du canari B infecté de *Plasmodium* et non traité.

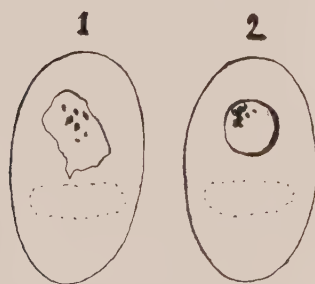


FIG. 6. — (1) *Plasmodium* normal; (2) *Plasmodium* altéré par le « 710 ».

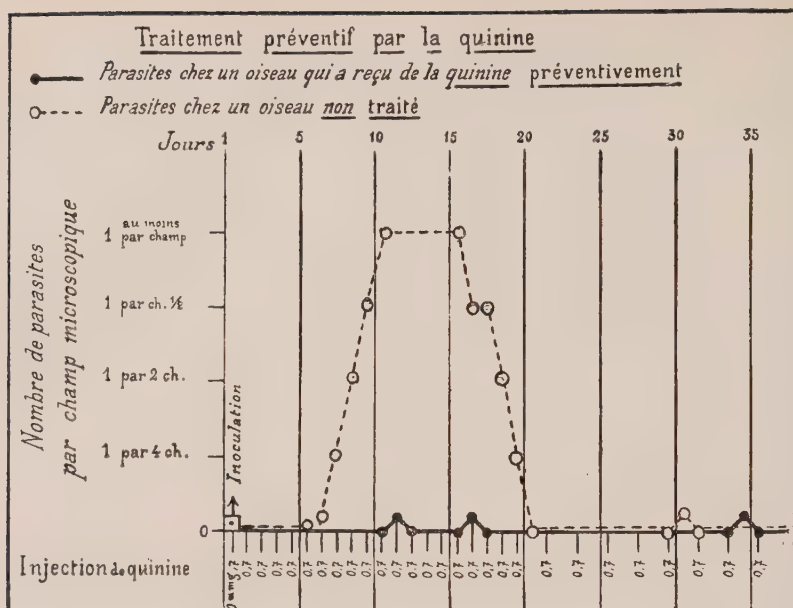


FIG. 7.

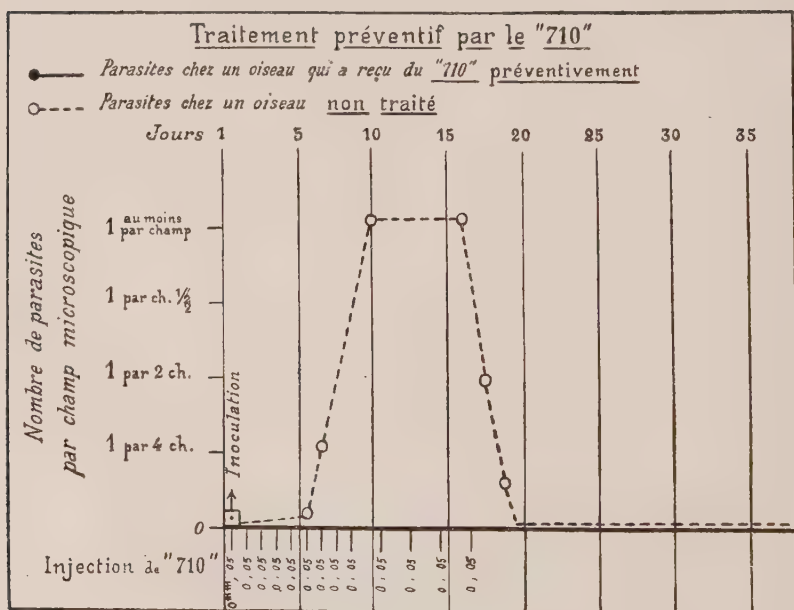


FIG. 8.

de celui de Bargaen, s'en distinguant cependant nettement et capable de reproduire expérimentalement la maladie chez l'animal. De même, en suivant exactement la méthode de Bargaen nous n'avons pas pu isoler son diplocoque dans de très nombreux cas de colites, alors que nous y avons mis en évidence soit notre germe, soit d'autres microbes.

4° Les microbes autres que celui de Bargaen et le nôtre isolés dans les colites ulcéreuses chroniques ne sont pas tous responsables de cette affection; beaucoup ne sont que des agents d'association. Il faut avoir recours à des tests spéciaux (intradermo-réaction positive, action nette des auto-vaccins, constatation simultanée du germe dans la lésion intestinale et en d'autres points de l'économie) pour affirmer qu'un microbe isolé au cours d'une colite en est bien l'agent pathogène.

5° Ainsi pratiqués, les examens bactériologiques permettent de reconnaître des colites occasionnées par le réveil d'un microbe, agent d'une infection générale antérieure guérie, mais qui est resté un certain temps à l'état de vie latente dans l'organisme et s'est ultérieurement fixé électivement sur le côlon. Telles sont les colites à Hiss ou Shiga chez d'anciens dysentériques, à Friedlander chez des malades guéris depuis longtemps d'une rhinite attribuable à ce germe, à *Salmonella* chez d'anciens paratyphoïdiques.

Ils permettent aussi de faire une place dans l'étiologie infectieuse des colites à certains germes, hôtes habituels ou occasionnels de l'intestin, généralement considérés comme saprophytes ou peu pathogènes, mais dont la virulence s'est exaltée : tel est le cas des colites à *B. coli* ou à entérocoque seuls ou associés.

6° En résumé, nous pensons que l'étiologie infectieuse de la colite ulcéreuse doit actuellement s'interpréter de la façon suivante : il existe des colites chroniques qui relèvent de germes spécifiques de cette affection. Ces germes sont fort rares, on n'en connaît actuellement que deux : celui de Bargaen et le nôtre.

D'autres colites ulcéreuses que nous appellerons « de rappel » sont le fait du réveil de germes ayant provoqué autrefois une infection générale de l'organisme, guérie au moment où ont éclaté les accidents intestinaux.

Une troisième catégorie de colites que nous dirons « de sortie », par analogie avec ce qui se passe dans la grippe, par exemple, est occasionnée par l'exaltation de la virulence de germes banaux de l'intestin et leur localisation sur certains points de cet organe où la résistance a été momentanément amoindrie, du fait d'un parasitisme exagéré ou pour toute autre cause (insuffisances digestives multiples, résistance générale du sujet diminuée par une maladie intercurrente, etc.).

BIBLIOGRAPHIE

1. BARGEN (J.-A.). Experimental Studies on the Etiologie of chronic ulcerative Colites. *Journ. Am. Med. Assoc.*, 2 août 1924.
2. BARGEN (J.-A.) and LOGAN. Experimental Studies of the Etiologie of chronic ulcerative Colites. *Collected Papers of the Mayo Clinic.*, 1925, p. 266.
3. BARGEN (J.-A.) and MINARD (F. Jacobs). Perforation of the Colon in Chronic ulcerative Colites. *Archives of internal Medicine*, vol. 43, avril 1929, p. 483-487.
4. BARGEN (J.-A.). Etat des recherches étiologiques sur la Colite ulcéreuse chronique. *Archives of internal Medicine*, 45, n° 4, avril 1930, résumé dans la *Presse Médicale*, n° 72, 6 septembre 1930.
5. BENSUADE et ANTOINE. Les Colites et les recto-Colites graves non dysentériques. *Gazette des Hôpitaux*, février 1920.
6. BONORINO UDAONDO (C.). *Les colites ulcéreuses chroniques*. Doin, éditeur, Paris, 1929.
7. BUTTIAUX (R.). Sur la présence de Spirilles dans les selles de colitiques. *C. R. Soc. de Biol.*, 103, 1930, p. 1015.
8. BUTTIAUX (R.) et SEVIN (A.). Au sujet d'un diplocoque isolé dans un cas de recto-sigmoïdite hémorragique. *C. R. Soc. de Biol.*, 102, 1929, p. 799.
9. BUTTIAUX (R.) et SEVIN (A.). Au sujet d'un diplocoque isolé dans un cas de de recto-sigmoïdite hémorragique. *C. R. Soc. de Biol.*, 103, 1930, p. 244.
10. BUTTIAUX (R.) et SEVIN (A.). Le diplocoque de la recto-sigmoïdite. Agglutination et sérums agglutinants. Bactériophage et formes filtrantes. *C. R. Soc. de Biol.*, 104, 1930, p. 551.
11. BUTTIAUX (R.) et SEVIN (A.). Exaltation de la virulence du bacille de Morgan par association avec l'entérocoque. *C. R. Soc. de Biol.*, 105, 1930, p. 658.
12. CALMETTE (A.). Etude expérimentale de la dysenterie. *Archives de Méd. navale*, 1893.
13. DESCHIEUX (R.) et CARVAILLO (R.). *La coprologie en pratique médicale*. Maloine, éditeur, Paris, 1929.
14. GERNEZ (Ch.). Inoculation cutanée et défense de l'organisme. *Thèse de Lille*, 1924.
15. P. HAUDEROY. *Les ultravirus et les formes filtrantes des microbes*. Masson, Paris, 1929.
16. KECICHIAN (H.). Vaccination par voie buccale contre la Colite expérimentale à bacilles pyocyaniques. *Revue de Pathologie comparée*, n° 404-405, 5-20 septembre 1930, p. 947.

17. LOCKART et MUMMERY. Diseases of the rectum and colon, London, 1923.
18. LOEWENTHAL. Die chronische post-dysenterische colitis. *Arch. für Verdauungsh.*, **95**, 1919, p. 465.
19. RAZEMON (P.). Complications pulmonaires après interventions sur l'estomac. *Thèse de Lille*, 1924.
20. SURMONT (H.) et BUTTIAUX (R.). De quelques conditions de préparation et d'administration d'auto-vaccins efficaces dans les colites. *Soc. de gastro-entérologie*, Paris, février 1928.
21. SURMONT (H.) et BUTTIAUX (R.). De quelques conditions de préparation et d'administration d'auto-vaccins, efficaces dans les colites. *Echo médical du Nord*, mars 1928.
22. SURMONT (H.) et BUTTIAUX (R.). L'auto-vaccination dans les colites graves. *Presse Médicale*, n° 57, 16 juillet 1930.
23. SCHMIDT. Zur Kenntins der colitis suppurativa gravis ulcerosa. *Mitt. aus den Greuzgeb. der Med. u. Chir.*, **27**, 1913, p. 150.
24. TORREY. The Bacteriology of the human colon with particular reference to ulcerative colites. *Annual Meeting of the Gastro-enterological associat. Atlantic City*, 1927.
25. TRAUT (E.) and RUSSEL (D. Herrold). A simple method of making cultures of the rectum. *The Journal of infectious Diseases*, **45**, 1929, p. 172.
26. WEINBERG et DAVESNES. Rôle de l'entérocoque dans les associations microbiennes. *C. R. Soc. de Biol.*, **98**, 1928, p. 196.

ERRATUM

Dans la notice nécrologique écrite par le Dr Roux dans le précédent fascicule des *Annales* (Juillet), il faut rectifier le prénom du Dr Veillon qui est *Adrien*, et non *André*.

Le Gérant : G. MASSON.

